



**UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS
CARRERA DE QUIMICA FARMACEUTICA**

**“DETERMINACIÓN DEL MÉTODO PARA LA OBTENCIÓN DE QUERATINA
COSMÉTICA A PARTIR DE PLUMAS GALLINÁCEAS”.**

Marcela Virginia Salazar Cedillo
marcelita.1405@hotmail.com

QUÍMICO-FARMACÉUTICO

Dr. Whasingtong Rodrigo Núñez Altamirano
washonunez@yahoo.com

Quito, marzo del 2013

Salazar Cedillo, Marcela Virginia (2013).
Determinación del método para la obtención de
queratina cosmética a partir de plumas
gallináceas. Trabajo de investigación para optar
por el grado de Química-Farmacéutica. Carrera
de Química y Farmacia Quito: UCE. 93 p.

DEDICATORIA

A mi Dios, Por darme vida, salud, amor y felicidad, y permitirme culminar esta etapa.

A mí adorada hija, Paula Giuliana, quien estuvo en mí y junto a mí en todo momento, juntas cumplimos este objetivo, siempre será inspiración, gracias por llegar a mi vida y llenarla de tanto amor.

A mis padres, Marcelo y Aida, por darme la vida, con su apoyo abnegado, sus consejos, nunca dejaron que desista ni que me falte nada pese a cualquier necesidad.

A mis hermanos, Gabrielita, Valerita, Jovita y Joselito, por llenar mi vida de tantos momentos hermosos, y apoyarme en los instantes más difíciles.

A mi familia, Mamá Ginita, mi ángel en la tierra, Papá Pepito, y abuelita Dorila mi ángel en el cielo, con su ejemplo de bondad y amor son el pilar de mi familia. Miriñcita, Nenita, Huguito y Geovani, por ser grandiosos y ejemplares, Huguito, Adriancito, Gatito, Geovanito y Josemita, por ser mis leales amigos.

A mi Novio, Paúl, quien conmigo comparte la dicha de ser padres y junto a mí estuvo cuando más lo necesitaba, gracias por ser amigo y escucharme, por tenerme paciencia y amarme, por apoyarme y hacerme tan feliz porque fuimos compañeros de aulas y seremos compañeros eternamente te amo.

A mis amigos, Magus, Naty, José, Faby, Tita, Vivi, y todos los que compartieron en aulas los bellos días de universidad, a ellos que me ayudaron a culminar este hermoso sueño.

AGRADECIMIENTO

A Dios, que siempre está junto a mí, y permitirme aprender que el camino estará lleno de adversidades pero que con paciencia y su gran amor todo es posible.

A mis padres y mis hermanos, gracias por todo su amor y su apoyo.

A mi hija, gracias por llegar a mi vida, ser mi inspiración y ser parte de este sueño.

A mis abuelitos, tíos y primos, gracias por enseñarme a que nada es más bello que contar con la sinceridad de una gran familia.

A mí UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR, y a la facultad de CIENCIAS QUÍMICAS por acogerme durante estos años y brindarme los mejores conocimientos.

A mí querido tutor de tesis, DR. Washingtong Núñez, por su esfuerzo y dedicación, quien con sus conocimientos, su experiencia, su paciencia y su motivación ha logrado junto a mí concluir este sueño.

A mis grandes maestros, Dr. Jorge Moncayo, Eduardo Mayorga, y todos los que son un ejemplos de vida y motivación de mi camino gracias por sus grandes enseñanzas. Y a mis queridos compañeros gracias por haberme regalado su amistad y conmigo disfrutado de tan hermosos momentos.

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA DE QUÍMICA Y FARMACIA

Yo, Marcela Virginia Salazar Cedillo en calidad de autor del trabajo de investigación realizada sobre **“DETERMINACIÓN DEL MÉTODO PARA LA OBTENCIÓN DE QUERATINA COSMÉTICA A PARTIR DE PLUMAS GALLINÁCEAS”**, por la presente autorizo a la UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR, hacer uso de todos los contenidos que me pertenecen o de parte de los que contienen esta obra, con fines estrictamente académicos o de investigación.

Los derechos que como autor me corresponden, con excepción de la presente autorización, seguirán vigentes a mi favor, de conformidad con lo establecido en los artículos 5, 6,8; 19 y demás pertinentes de la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

Quito, a los 15 días del mes de marzo del 2013



Marcela Virginia Salazar Cedillo
C.C.1717302481

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA DE QUÍMICA Y FARMACIA

Por la presente, dejo constancia que he leído la tesis presentada por la Señorita Marcela Virginia Salazar Cedillo para optar por el título profesional cuyo tema es; **“DETERMINACIÓN DEL MÉTODO PARA LA OBTENCIÓN DE QUERATINA COSMÉTICA A PARTIR DE PLUMAS GALLINÁCEAS”**, la misma que reúne los requerimientos, y los méritos suficientes para ser sometida a evaluación por el tribunal calificador

En la ciudad de Quito, a los 15 días del mes de marzo del 2013



Dr. Washigton Núñez
C.C 1800814129

\

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA DE QUÍMICA Y FARMACIA

INFORME DEL TRIBUNAL CALIFICADOR

Quito, 15 de marzo de 2013

Señor

DECANO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

Presente

Señor Decano:

El Tribunal encargado de calificar la Tesis **“DETERMINACIÓN DEL MÉTODO PARA LA OBTENCIÓN DE QUERATINA COSMÉTICA A PARTIR DE PLUMAS GALLINÁCEAS”**,

Presentada por: Marcela Virginia Salazar Cedillo estudiante de la Carrera de: QUÍMICA Y FARMACIA, luego del estudio y revisión correspondiente, resolvió:



APROBAR la Tesis con la NOTA de:

19.3 (Diecinueve punto tres)

y autorizar para que la escriba definitivamente.


REPROBAR



la Tesis.

Es cuanto podemos informar.

Atentamente,



PROFESOR

Washigton Rodrigo Núñez Altamirano
1800814129



PROFESOR

Eduardo Patricio Mayorga Llerena
1801508019



PROFESOR

Jorge Enrique Moncayo Sánchez
1704330313

LISTA DE CONTENIDO

	pag.
CAPÍTULO I	1
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	1
1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	2
1.3 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN	2
1.3.1 <i>Objetivo General</i>	2
1.3.2 <i>Objetivos Específicos</i>	2
1.4 JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN	3
1.5 HIPÓTESIS	3
 CAPITULO II	 4
2.MARCO TEÓRICO	4
2.1 ANTECEDENTES.	4
2.2. FUNDAMENTO TEÓRICO	5
2.2.1 <i>Las proteínas</i>	5
2.2.1.1. Características	5
2.2.1.2. Estructura.	5
2.2.1.3 Propiedades físicas.	9
2.2.1.4 Propiedades químicas.	15
2.2.2 <i>Queratina</i>	15
2.2.2.1 Estructura	16
2.2.2.2 Reacciones químicas de la queratina:	18
2.2.2.3 Aplicaciones de la queratina	24
2.2.3 <i>Reductores de la queratina y oxidantes de disulfuros y tioles.</i>	25
2.2.3.1 Reductores de disulfuros.	25
2.2.3.2 Oxidantes de disulfuros y tioles.	27
2.2.4 <i>Magnitudes de las soluciones</i>	28
 CAPITULO III	 34

3. METODOLOGÍA	34
3.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN	34
3.2. POBLACIÓN Y MUESTRA	34
3.3. DISEÑO EXPERIMENTAL	34
3.3.1 Tipo de Diseño	34
3.3.1 .1 Variables Independientes:	35
3.3.1.2 Variable dependiente	35
3.3.2 Hipótesis estadística	36
3.3.3 Cálculos	37
3.4 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE LA INVESTIGACIÓN	41
3.4.1 Obtención de la muestra de plumas de gallináceas	41
3.4.2 Lavado y secado de las plumas:	41
3.4.3 Métodos de obtención de las soluciones de queratina (SQ_1)	41
3.4.3.1 Método I o del sulfuro de sodio	41
3.4.3.2 Método II o del etóxido de sodio	43
3.4.3.3 Método III o del borohidruro de sodio	44
3.4.4. Determinación del contenido de sólidos totales	44
3.4.5 Unidades experimentales del método I	466
3.4.6 Soluciones de queratina al 2% (SQ_2)	47
 CAPÍTULO IV	 54
4. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS	54
4.1 RESULTADOS	54
4.1.1 Datos de la muestra de plumas	54
4.1.2 Resultados de la caracterización de las soluciones en los tres métodos	54
4.1.3 Resultados de la comparación entre las queratinas	56
4.1.4 Resultados de la caracterización de las soluciones de queratina	57
4.1.5 Resultados del análisis de varianza de los datos obtenidos	61
4.2 ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	68
4.2.1 Utilización de una parte de las plumas	68
4.2.2 Determinación del método adecuado para la producción de queratinacósmética	68
4.2.3 Efecto de la variación de las cantidades de Na_2S y H_2O_2	69
4.2.5 Confirmación estadística de la relación entre las variables usadas	70
4.2.6 Elección de la variable dependiente adecuada	70
4.2.7 Trasformación química de la queratina natural	70

CAPÍTULO V	71
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	71
<i>5.1 CONCLUSIONES.</i>	71
<i>5.2 RECOMENDACIONES.</i>	72
 BIBLIOGRAFÍA	74
ANEXOS	74

LISTA DE TABLAS

	pag.
Tabla 2.1. Valores de pKa de los grupos ionizables de las proteínas.....	13
Tabla 2.2. Datos de los líquidos usados en la determinación de la viscosidad a 20°C	31
Tabla 3.1. Tratamientos del experimento de obtención de queratina.....	36
Tabla 3.2. Sumatoria de las combinaciones de tratamientos.....	38
Tabla 3.3. Arreglos combinatorios.....	39
Tabla 3.4. Análisis de varianza.....	40
Tabla 3.5. Especificaciones de la solución de queratina y de referencia.....	45
Tabla 3.6. Datos del contenido de sólidos de queratina y de referencia... ..	48
Tabla 3.7. Datos del índice refracción, a 20°C, de las soluciones y de referencia.	49
Tabla 3.8. Datos de la densidad, a 20°C, de las soluciones y de referencia....	51
Tabla 3.9. Datos de tiempos en la determinación de la viscosidad, a 20°C,.....	52
Tabla 3.10. Datos de la viscosidad (μ), a 20°C, de las soluciones de queratina.....	53
Tabla 4.1. Características de la solución de queratina obtenida por el método I.....	55
Tabla 4.2. Características de la solución de queratina obtenida por el método II.....	55
Tabla 4.3. Características de la solución de queratina obtenida por el método III.....	56
Tabla 4.4. Diferencias en las características de las soluciones de queratina.....	56
Tabla 4.5. Porcentaje de sólidos de soluciones de queratina y de referencia.....	57
Tabla 4.6. Índices de refracción (n) de soluciones de queratina y de referencia	58
Tabla 4.7. Densidad (ρ) de soluciones de queratina y de referencia	59
Tabla 4.8. Viscosidad (cP) a 20°C de las soluciones de queratina y de referencia.....	60
Tabla 4.9. Arreglo combinatorio axb para índice de refracción.....	61
Tabla 4.10. Resumen del ADEVA para índice de refracción.....	62
Tabla 4.11. Arreglo combinatorio axb para Densidad.....	63
Tabla 4.12. Resumen del ADEVA para Densidad.....	65
Tabla 4.13. Arreglo combinatorio axb para Viscosidad.....	66
Tabla 4.14. Resumen del ADEVA para Viscosidad.....	67

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 2.1. Reacción entre aminoácidos para formar el enlace peptídico.....	5
Figura 2.2. Estructura primaria de las proteínas.....	6
Figura 2.3. Estructura secundaria (alfa- helicoidal) de las proteínas.	7
Figura 2.4. Giro beta y estructura secundaria beta de las proteínas.	7
Figura 2.5. Estructura terciaria de las proteínas.	8
Figura 2.6. Estructura cuaternaria de las proteínas	9
Figura 2.7. Ósmosis de las proteínas.....	10
Figura 2.8. Efecto Donnan	11
Figura 2.9. Precipitación selectiva de las proteínas.....	11
Figura 2.10. Dipolos del agua alrededor de una proteína.....	12
Figura 2.11. Carga neta de las proteínas según el pH....	14
Figura 2.12. Desnaturalización reversible de la enzima ribonucleasa (1) y renaturalización (2)....	15
Figura 2.13 Estructura de la fibra de queratina.	16
Figura 2.14 Estructura primaria de la queratina.	16
Figura 2.15. Estructura secundaria, en α -hélice y en hoja β -plegada de la queratina..	17
Figura 2.16. Estructura terciaria de la queratina	18
Figura 2.17. Viscosímetro Ostwalt.....	32
Figura 3.2. Variación del índice de refracción de la solución de queratina	58
Figura 3.3. Variación de la densidad de la solución de queratina.	59
Figura 3.4. Variación de la viscosidad de la solución de queratina	60

RESUMEN DOCUMENTAL

La amplia aplicación de la queratina en los campos de la cosmetología y de los alimentos ha propiciado la investigación de los procesos de producción. La fuente natural principal de la queratina es las plumas de aves de corral. Los procesos de producción de la queratina cosmética están patentados y por lo mismo, no se conocen las condiciones adecuadas para la obtención de esta calidad de queratina.

Por otro lado, en el Ecuador mensualmente se desechan 72 toneladas de plumas de pollo y se importa grandes cantidades de productos cosméticos como cremas, gel, shampoo, loción, etc. para el cabello que contienen queratina. (Claudio, 2009)

El objetivo principal de esta investigación es determinar el método adecuado de producción de queratina hidrosoluble, a partir de las barbillas de las plumas de pollo, y condiciones necesarias para que el producto, tenga características similares a las de una queratina cosmética, adquirida en el comercio.

Tres métodos diferentes se aplicaron en la obtención de la queratina que se denominaron: método del sulfuro de sodio, método del etóxido de sodio y método del borohidruro de sodio. Por las ventajas encontradas se eligió al primer método y en la segunda fase de la investigación se variaron las cantidades de Na_2S y de H_2O_2 para determinar aquellas que producen queratina cosmética.

Estadísticamente se demostró que la variación de las cantidades de Na_2S y de H_2O_2 tienen efecto significativo en las siguientes características de la solución de queratina: contenido de sólidos, índice de refracción, densidad y viscosidad.

PALABRAS CLAVE:

QUERATINA, PLUMAS DE POLLOS, PROTEÍNAS, CONVERSIÓN DE RESIDUOS-
PLUMAS DE POLLO, APROVECHAMIENTO DE RESIDUOS-PLUMAS DE POLLO,
QUERATINA COSMÉTICA, RESIDUOS AVÍCOLAS

BSTRACT

The wide application of keratin in the fields of cosmetology and food has led to the investigation of the production processes. The main natural source of keratin is the poultry feathers. The production processes of the cosmetic keratin are patented and therefore, no known suitable conditions for obtaining this quality of keratin.

Meanwhile, in Ecuador monthly 72 tons of discarded chicken feathers and imported large amounts of cosmetics such as creams, gels, shampoo, lotion, etc., containing hair keratin. (Claudio, 2009)

The main objective of this research is to determine the appropriate method of soluble keratin production, from the chins of chicken feathers, and conditions for the product, has characteristics similar to those of a cosmetic keratin, acquired in trade.

Three different methods were applied in the production of keratin were termed: Method sodium sulfide, sodium ethoxide method and sodium borohydride method. The advantages found by the first method were chosen and in the second stage of the investigation were varied amounts of Na_2S and H_2O_2 to determine those that produce keratin cosmetics.

Statistically showed that the variation of the quantities of H_2O_2 and Na_2S have significant effect on the following characteristics of the keratin solution: solids content, refractive index, density and viscosity.

LUGAR DONDE SE REALIZÓ LA INVESTIGACIÓN:

Esta investigación se realizó en los laboratorios de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Central del Ecuador.

- Síntesis Orgánica y Polímeros y Plásticos.
- Coloideoquímica.
- Análisis Instrumental

CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Desde 1970, la industria avícola ecuatoriana ha crecido de manera sostenida, debido al crecimiento de la población de nuestro país y los cambios en su alimentación (en promedio, cada habitante consume 23kg de carne de pollo al año). Ahora constituye un sector importante de la economía nacional, debido a su relación con otros sectores económicos y ella se consolidó como una gran cadena agroindustrial; en la cual preocupa el problema de la emisión de grandes volúmenes de contaminantes orgánicos mal procesados y que se están desperdiciando, como se observa a continuación.

Solamente en la provincia de Pichincha existen 44 plantas avícolas (Osejos, 2009), de las cuales para este estudio se ha tomado como referencia a la planta “AVÍCOLA GRANJA RANCHO EDEN”, de propiedad del Señor Luis Hurtado. En esta planta se faenan alrededor de 200 pollos diarios, si un pollo de 45 días de edad, pesa 2.4 kg y el 6.5% de su peso (150g) corresponde a plumas; En promedio, de los 200 pollos se generan 30 kg de plumas al día y se desechan alrededor de 11000 kg de plumas al año. Si a esta cantidad de plumas se procesa como materia prima, de ella se obtendría alrededor de 9000 kg de queratina, ya que el 80% de su peso corresponde a esta proteína. (Osejos, 2009)

En los últimos 5 años, Ecuador a importado queratina cosmética, 823.035 toneladas en 1999 a 2'121.009 toneladas en el 2011, que proviene de países como Brasil, México, Colombia y Argentina habiendo invertido aproximadamente 73millones de dólares. (Claudio, 2009).

Otro problema relacionado con la queratina se refiere a sus procesos de obtención de queratina a partir de las plumas, estos están patentados y en las fuentes bibliográficas solamente se encuentran los aspectos generales. En los métodos encontrados no se especifican las condiciones necesarias para su extracción; además, estas condiciones son muy agresivas y producen queratina desnaturalizada, que no tiene calidad cosmética.

Por último, se desconoce la influencia de la variación de las condiciones del proceso de obtención de la queratina en los parámetros de su calidad; tales como: el porcentaje de sólidos de la solución, su densidad, su viscosidad, el índice de refracción, etc.; para tener el debido control del proceso, según la calidad de queratina deseada.

1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

En base al planteamiento anterior, el problema de esta investigación se formula con los siguientes interrogantes:

¿Qué ventajas y desventajas tiene el método con sulfuro de sodio en la obtención de queratina cosmética a partir de plumas gallináceas? y ¿Cómo influye la cantidad del sulfuro de sodio y del peróxido de hidrógeno del método en el índice de refracción, la densidad y la viscosidad de la solución acuosa de la queratina obtenida?

1.3 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.3.1 Objetivo General

Determinar las ventajas y desventajas del método con sulfuro de sodio en la obtención de queratina cosmética a partir de plumas gallináceas, y la influencia que tiene la cantidad de sulfuro de sodio y de peróxido de hidrógeno del método en el índice de refracción, la densidad y la viscosidad de la solución acuosa de la queratina obtenida.

1.3.2 Objetivos Específicos

- a) Obtener una muestra de las plumas gallináceas que sea representativa y que tenga las características deseadas para la experimentación.
- b) Aplicar en el laboratorio los métodos conocidos para la obtención de queratina a partir de plumas gallináceas.
- c) Comparar los resultados obtenidos con cada método conocido para la obtención de queratina a partir de plumas gallináceas, en referencia a las características de la queratina cosmética.
- d) Experimentar con el método que utiliza sulfuro de sodio en la obtención de queratina a partir de plumas gallináceas, variando la cantidad de sulfuro de sodio y de peróxido de hidrógeno en el procedimiento y obteniendo el producto en forma de una solución acuosa de queratina.
- e) Determinar el índice de refracción, la densidad y la viscosidad de la solución acuosa de la queratina obtenida en cada unidad experimental y de una muestra comercial de queratina cosmética.
- f) Realizar el análisis estadístico con los resultados obtenidos en todas las unidades experimentales.

1.4 JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN

Esta investigación se justifica porque:

- a) De los métodos conocidos para producir queratina a partir de diferentes fuentes naturales, aquí se elegirá al método adecuado para obtener esta proteína, de las plumas gallináceas y adicionalmente, que la queratina tenga calidad cosmética. Información que no se encuentra, en forma detallada, en las fuentes bibliográficas disponibles porque ha sido patentada y tiene uso restringido.
- b) Aquí se conocerá la influencia de las dos variables independientes principales del proceso de producción de la queratina (cantidad de sulfuro de sodio y cantidad d peróxido de hidrógeno) en las variables dependientes del producto (densidad, índice de refracción y viscosidad de la solución acuosa de queratina), así se establecerá la mejor magnitud en el control de la calidad de la queratina cosmética.

Esta investigación es importante porque sus resultados servirán para:

- a) Disponer de un método adecuado en la producción de queratina cosmética de plumas gallináceas, donde variando la cantidad de sulfuro de sodio y de peróxido de hidrógeno se obtendrá la calidad deseada de producto indicado.
- b) Plantear otras investigaciones sobre la aplicación de la queratina obtenida en varios productos cosméticos (cremas, gel, shampoo, loción, etc. para el cabello) o en otros usos (proteínas para balanceados).

1.5 HIPÓTESIS

El método del sulfuro de sodio si es un adecuado para la producción de queratina cosmética de plumas gallináceas y las cantidades de sulfuro de sodio y de peróxido de hidrógeno utilizados en el proceso de obtención si influyen en la densidad, índice de refracción y viscosidad de la solución acuosa de la queratina obtenida.

CAPITULO II

2. MARCO TEÓRICO.

2.1 ANTECEDENTES.

Esta investigación se basó en la siguiente información:

a) “OBTENCIÓN DE QUERATINA DE PLUMAS DE GALLINA” informe de laboratorio de Polímeros y Plásticos, Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Central del Ecuador, realizado por Rodríguez Suly en el 2009, aplicó el método de sulfuro de sodio y a las condiciones ambientales, de 10g de plumas (solamente las fibrillas) se obtienen 2,729g de queratina, como un polvo blanco que tiene un punto de fusión de 196-200°C, y da positivo en el análisis elemental de azufre. (Rodriguez, 2009)

b) “REDUCCIÓN QUÍMICA DE PLUMAS DE AVES PARA LA OBTENCIÓN DE QUERATINA HIDROLIZADA” investigación realizada por Javier Paz Rodríguez, Ingeniería Química – Universidad del Valle Bolivia 2009, aplicó el método del ataque de plumas de pollos con ácidos y bases fuertes a diferentes concentraciones. (Rodríguez, 2009)

También las plumas de pollos, (barbillas más vástagos), con el NaBH₄/ THF: Agua, da un producto blanco de fácil molienda, que al re disolverse produce cristales transparentes de consistencia dura. Las condiciones óptimas se determinan mediante el análisis factorial correspondiente pero se obtiene una queratina muy desnaturalizada. (Rodríguez, 2009)

c) “PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCION DE MICROFIBRAS DE QUERATINA A PARTIR DE RESIDUOS GANADEROS” Patente de Florido Rodríguez, José Luis, describe la obtención de productos de queratina (soluble y microfibras insolubles) a partir de residuos ganaderos, tales como: plumas, pelo, piel, pezuñas o cuernos. El procedimiento consta de una sucesión de etapas de triturado, hidrólisis y oxidación, con Sulfuro de sodio y Peróxido de Hidrogeno, comunes para la obtención de ambos productos de queratina. La queratina soluble se obtiene aplicando las técnicas, ultrafiltración, lavado y secado (mediante atomización o liofilización). Esta se aplica en la industria cosmética o de alimentos (humana o animal). Las

microfibras de queratina insolubles, por su resistencia y elasticidad se utilizan en la industria textil, de polímeros, del papel y de biomateriales. (Florido, 2010)

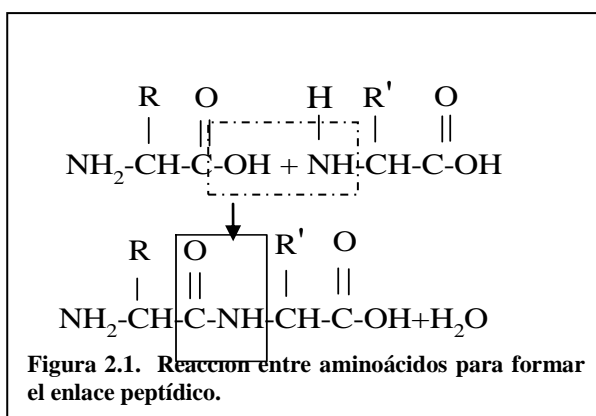
2.2. FUNDAMENTO TEÓRICO

2.2.1 Las proteínas

Son biopolímeros, formados por gran número de unidades estructurales repetitivas, debido a su gran tamaño, cuando estas moléculas se dispersan en un disolvente adecuado, forman siempre dispersiones coloidales, con características que las diferencian de las disoluciones de moléculas más pequeñas. (García, 2010)

2.2.1.1. Características

Las proteínas son largas cadenas de aminoácidos unidas por enlaces peptídicos entre el grupo carboxilo (-COOH) y el grupo amino (-NH₂) de residuos de aminoácido adyacentes.

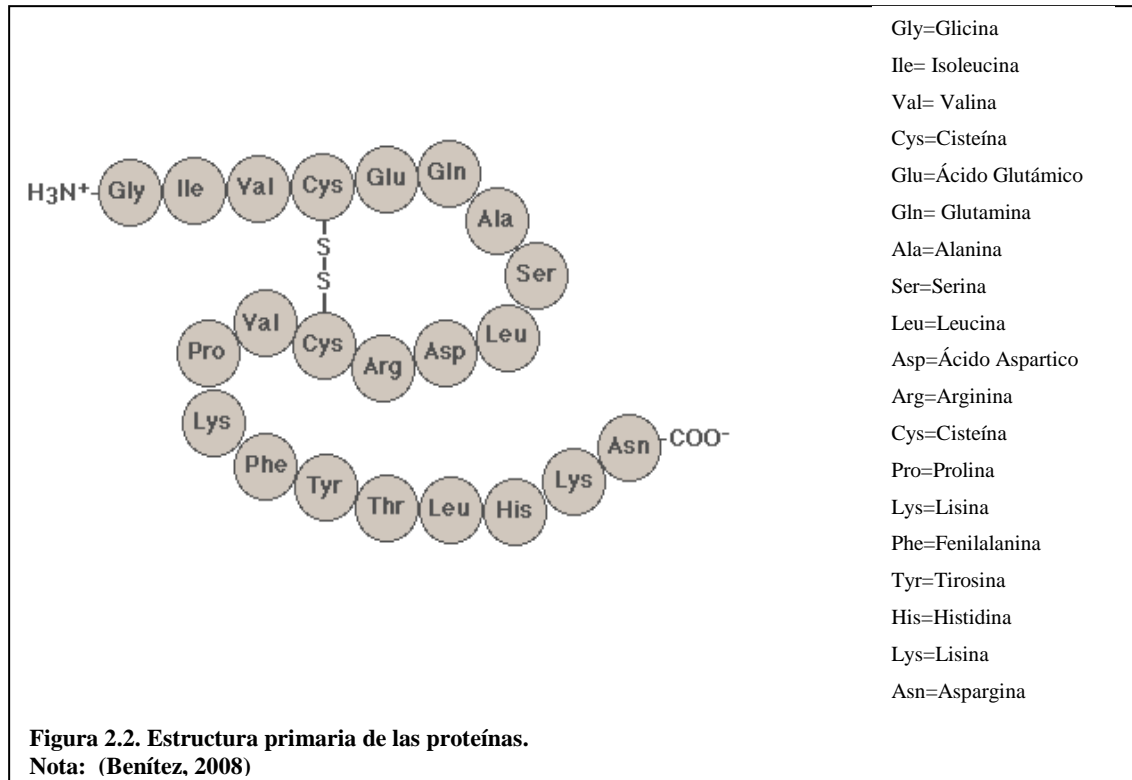


Por hidrólisis, las moléculas de proteína se dividen en numerosos compuestos relativamente simples, de masa molecular pequeña, que son las unidades fundamentales constituyentes de la macromolécula, estas unidades son los aminoácidos, de los cuales existen veinte especies diferentes y que se unen entre sí mediante enlaces peptídicos. Cientos y miles de estos aminoácidos pueden participar en la formación de la gran molécula polimérica de una proteína. (García, 2010).

2.2.1.2. Estructura.

La organización de una proteína viene definida por cuatro niveles estructurales denominados: estructura primaria, estructura secundaria, estructura terciaria y estructura cuaternaria. Cada una de estas estructuras informa de la disposición de la anterior en el espacio. (García, 2010)

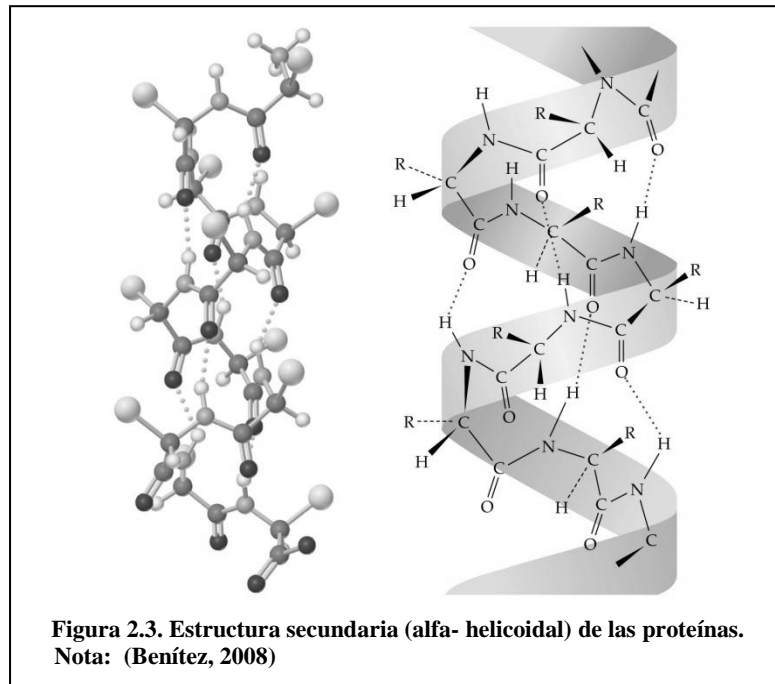
a) Estructura primaria.- La estructura primaria es la secuencia de aminoácidos de la proteína. Nos indica qué aminoácidos componen la cadena polipeptídica y el orden en que dichos aminoácidos se encuentran. La función de una proteína depende de su secuencia y de la forma que ésta adopte.



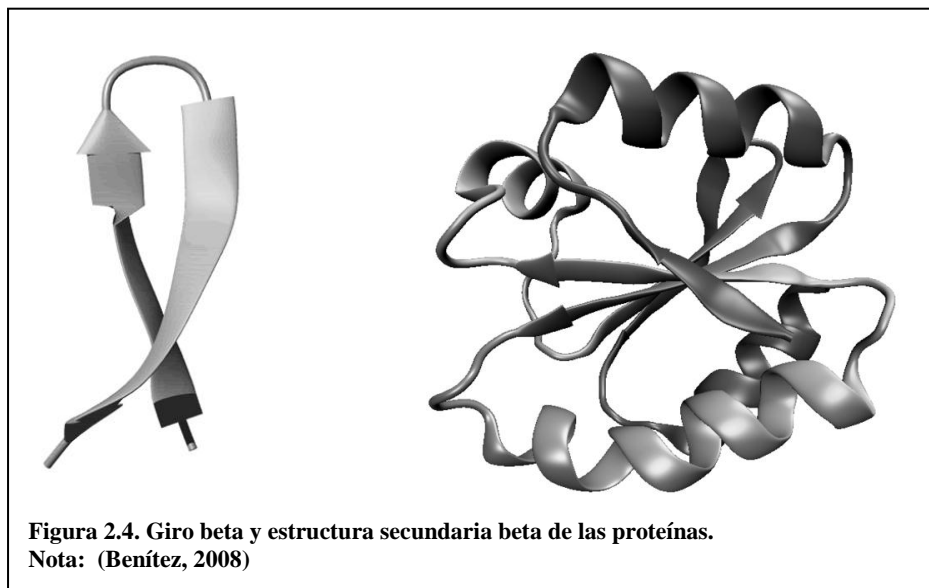
b) Estructura secundaria.- La estructura secundaria es la disposición de la secuencia de aminoácidos en el espacio. Los aminoácidos, a medida que van siendo enlazados durante la síntesis de proteínas y gracias a la capacidad de giro de sus enlaces, adquieren una disposición espacial estable, la estructura secundaria.

Existen dos tipos de estructura secundaria:

- La estructura alfa-hélice.- Esta estructura se forma al enrollarse helicoidalmente sobre sí misma la estructura primaria. Se debe a la formación de enlaces de hidrógeno entre el $-C=O$ de un aminoácido y el $-NH-$ del cuarto aminoácido que le sigue.



- La estructura beta.-En esta disposición los aminoácidos no forman una hélice sino una cadena en forma de zigzag, denominada disposición en lámina plegada. Esta estructura secundaria presenta la queratina de la seda o fibroína.

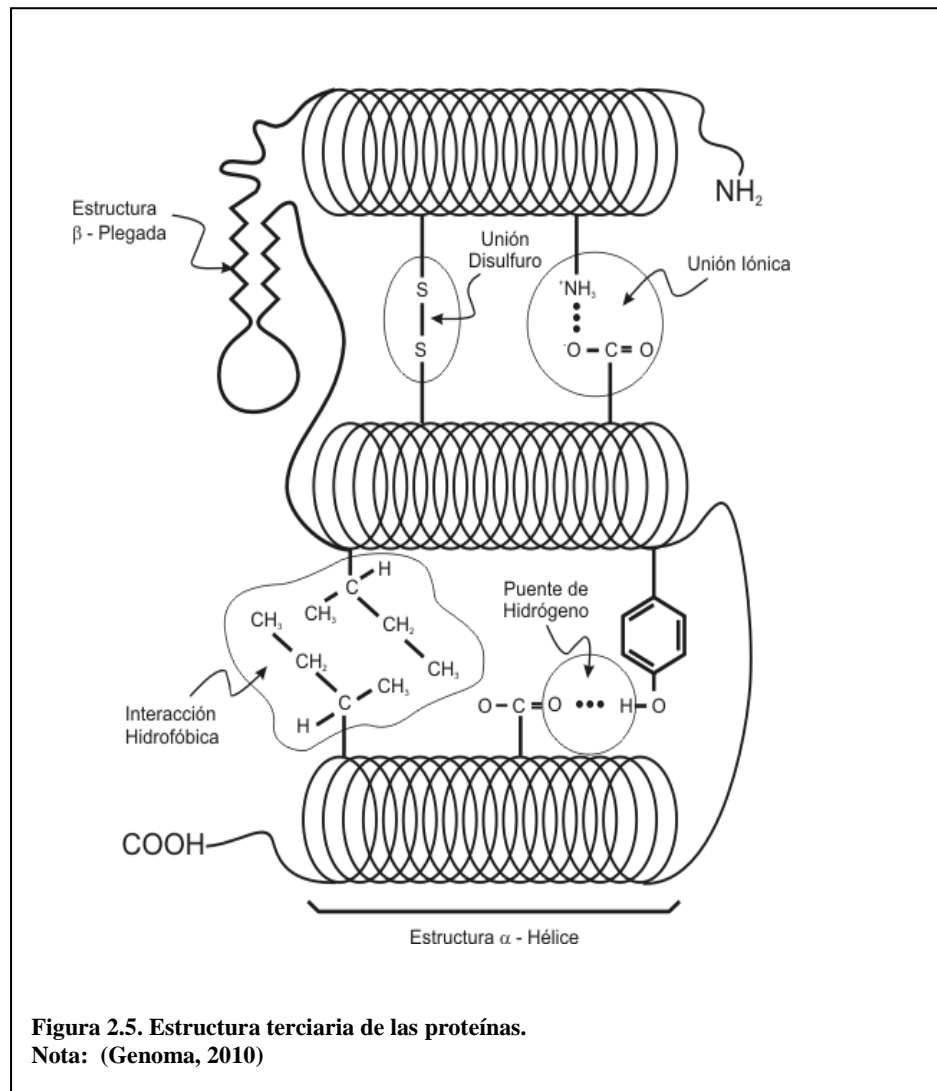


El giro beta permite un cambio de dirección de la cadena peptídica, necesario para que adopte una estructura más compacta y las hebras beta están representadas como flechas, conectadas a través de dobleces y giros beta.

c) Estructura terciaria.- Esta corresponde a la disposición de la estructura secundaria de un polipéptido al plegarse sobre sí misma originando una conformación globular, la que facilita la solubilidad en agua y así realizar funciones de transporte, enzimáticas, hormonales, etc.

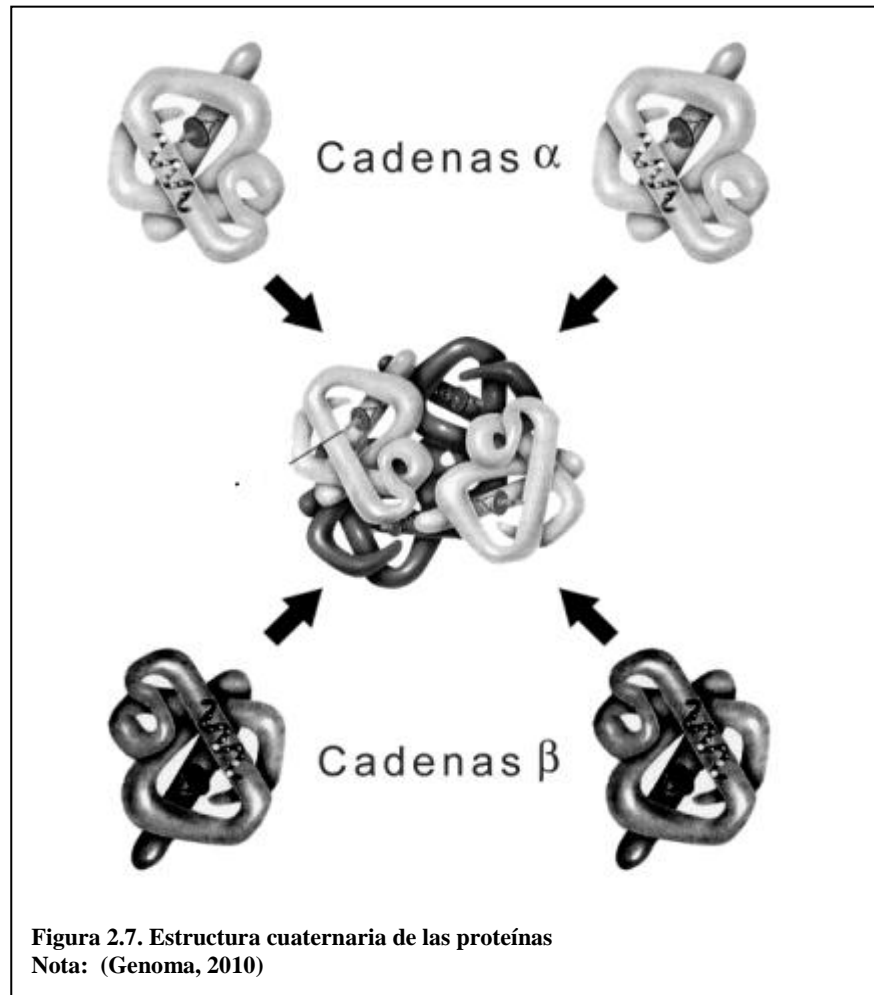
Esta conformación globular se mantiene estable gracias a la existencia de enlaces entre los radicales R de los aminoácidos. Los varios tipos de enlaces son:

- Unión disulfuro entre los radicales de aminoácidos que tienen azufre.
- Puentes de hidrógeno.
- Unión iónica.
- Interacciones hidrófobas.



d) Estructura cuaternaria.- Esta corresponde al complejo proteico, formado por enlaces débiles (no covalentes) de varias cadenas polipeptídicas con estructura terciaria. Cada una de las cadenas polipeptídicas recibe el nombre de protómero.

El número de protómeros varía desde dos, (como en la hexoquinasa); cuatro (como en la hemoglobina), o muchos, (como la cápsida del virus de la poliomielitis, que tiene sesenta unidades proteicas).

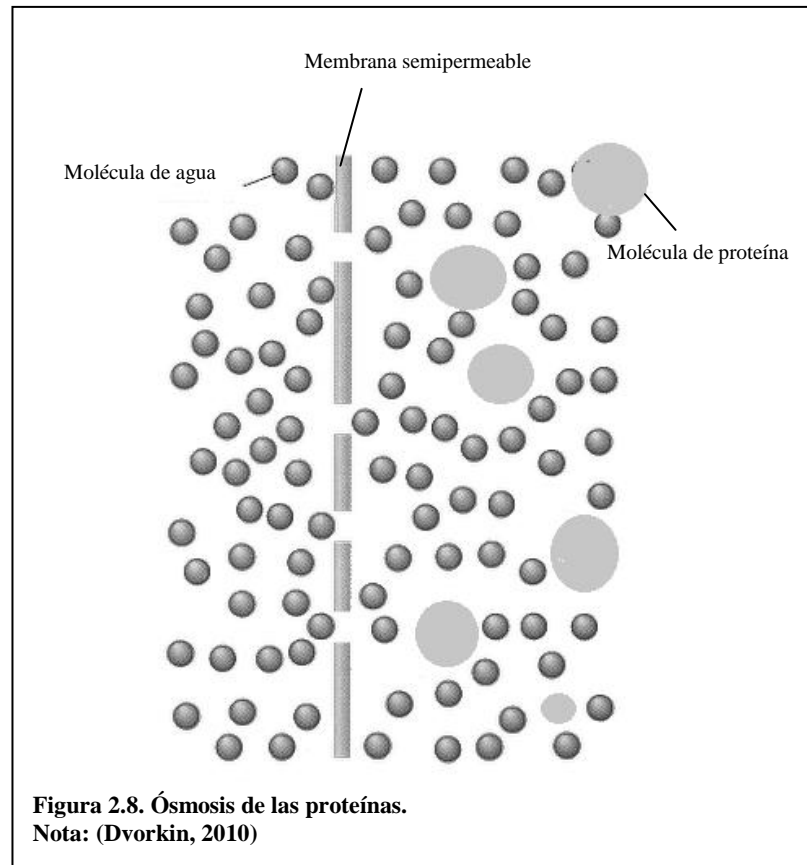


La estructura anterior corresponde a la molécula de hemoglobina. Formada por dos cadenas de α -hemoglobina y dos cadenas de β -hemoglobina. Cada cadena transporta una molécula de oxígeno. (Genomasur, 2010)

2.2.1.3 Propiedades físicas.

Desde el punto de vista bioquímico, las propiedades de las proteínas son: (a) propiedades osmóticas (b) precipitación selectiva (c) la capacidad amortiguadora y (Kerstetter, 2005).

a) Propiedades Osmóticas.- Como todo soluto molecular o iónico, las proteínas ejercen un efecto osmótico cuando existen barreras que limitan su libre difusión, como puede ser una membrana semipermeable, que permite el paso del agua, pero no de los solutos.

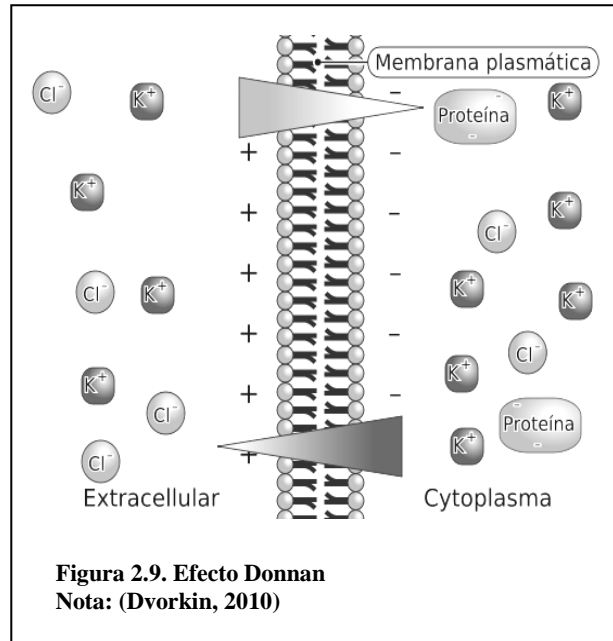


El valor de la presión osmótica se puede calcular mediante la fórmula de Van't Hoff: $\pi = cRT$, donde π es la presión osmótica, c es la concentración, R es la constante de los gases y T es la temperatura absoluta.

En el caso de las proteínas, el efecto osmótico se amplía por otros dos factores: a) la presión por el agua de hidratación que forma la envoltura acuosa de las proteínas y b) la presión por el exceso de iones debido al efecto Donnam, que se explica a continuación.

Las proteínas se comportan como polianiones, cuyas cargas están neutralizadas por los contra iones Na^{\oplus} o K^{\oplus} . Las membranas biológicas son permeables a estos iones, con lo cual su concentración a ambos lados de la membrana se equilibra.

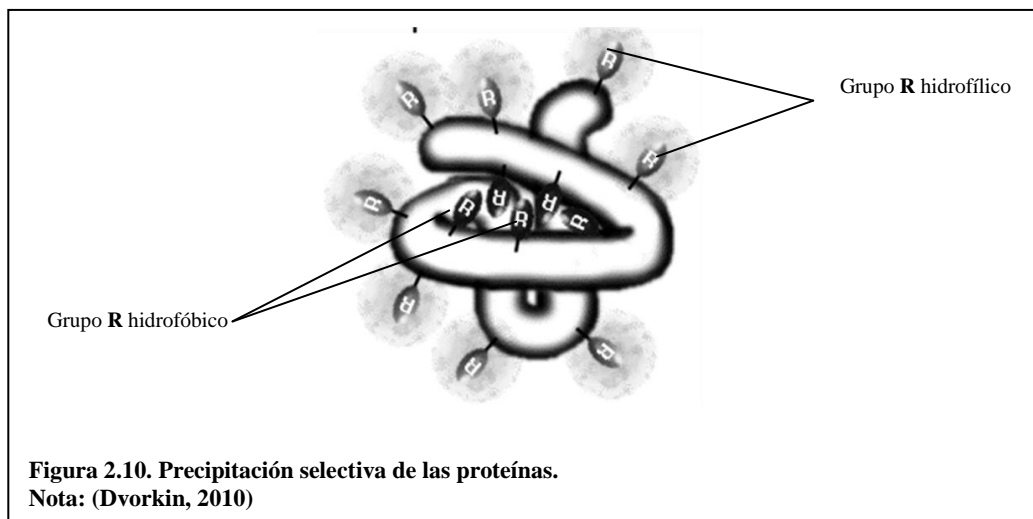
La existencia de proteínas en sólo uno de los compartimentos provoca la retención permanente de iones difusibles en ese lado de la membrana, lo que incrementa el efecto osmótico.



Al efecto osmótico conjunto de las proteínas, se denomina presión coloidosmótica que es el resultado de:

- la presión osmótica (que sólo depende del número de partículas)
- la presión provocada por el agua de hidratación
- la presión provocada por el exceso de iones debido al efecto Donnan.

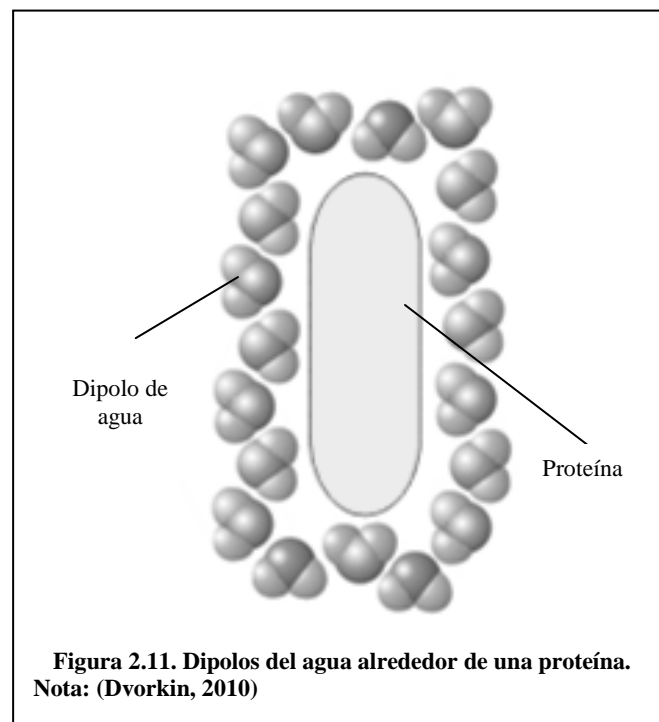
b) Precipitación selectiva.- En disolución acuosa, los residuos hidrofóbicos de las proteínas globulares se acumulan en el interior de la estructura, mientras que en la superficie aparecen diversos grupos con carga eléctrica, que variará en función del pH del medio.



Los dipolos del agua se orientan alrededor de los grupos cargados en función de la carga eléctrica de cada grupo, de tal manera que la proteína presenta una capa formada por el agua de hidratación, que es el agua retenida por las cargas eléctricas presentes en la superficie de las proteínas.

Los aminoácidos polares sin carga también se disponen en la superficie, donde interaccionan con el agua mediante puentes de hidrógeno.

Cualquier factor que modifique la interacción de una proteína con el disolvente disminuirá su estabilidad en disolución y provocará su desnaturalización y precipitación. Así, la desaparición total o parcial de la envoltura acuosa, la neutralización de las cargas eléctricas de tipo repulsivo o la ruptura de los puentes de hidrógeno facilitarán la agregación intermolecular y provocarán la precipitación. En muchas ocasiones, la formación de agregados fuertemente hidrofóbicos impide su renaturalización, y hacen que el proceso sea irreversible.



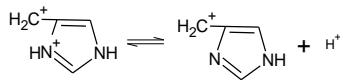
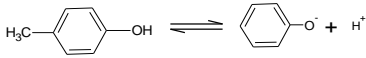
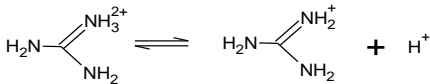
Sin embargo, en algunos casos, la desnaturalización es reversible, ya que la estructura primaria contiene la información necesaria y suficiente para recuperar la estructura tridimensional nativa. Esta propiedad es de gran utilidad durante los procesos de aislamiento y purificación de proteínas. Como no todas las proteínas reaccionan de igual forma ante un cambio en las condiciones del medio donde se encuentra disuelta, es posible provocar la precipitación selectiva de proteínas. Las proteínas precipitadas se separan fácilmente de las demás proteínas y, si el proceso es reversible, se puede renaturalizar la proteína para que vuelva a adoptar su estructura nativa.

Los dos métodos más utilizados para provocar la precipitación selectiva (y reversible) de las proteínas son:

- Cambios en la fuerza iónica: para ello se utiliza sulfato amónico, urea o cloruro de guanidinio
- Cambios en la polaridad del disolvente para ello se utiliza etanol o acetona.

c) **Capacidad Amortiguadora.-** Esta propiedad se debe a la existencia de (a) los grupos ionizables de las cadenas laterales de los aminoácidos Asp, Glu, Lys, Arg, His, Tyr, Cys; y (b) los grupos COOH y NH₂ terminales. Por este motivo, las proteínas poseen un considerable poder amortiguador en una amplia zona de pH. Aunque cada aminoácido tiene unos grupos ionizables con unas constantes de ionización (pKa) características, el valor de dichas constantes puede verse ligeramente modificado por el entorno proteico.

Tabla 2.1. Valores de pKa de los grupos ionizables de las proteínas.

Grupo ionizable	Equilibrio de disociación	pKa* típico
Carboxilo terminal	$\text{COOH} \rightleftharpoons \text{COO}^- + \text{H}^+$	3,1
Ácidos aspártico y glutámico.	$\text{COOH} \rightleftharpoons \text{COO}^- + \text{H}^+$	4,4
Histidina		6,5
Amino terminal	$\text{H}-\text{NH}_3^+ \rightleftharpoons \text{H}\text{NH}_2 + \text{H}^+$	8,0
Cisteína	$\text{H}_2\text{S} \rightleftharpoons \text{HS}^- + \text{H}^+$	8,5
Tirosina		10,0
Lisina	$\text{H}-\text{NH}_3^+ \rightleftharpoons \text{H}\text{NH}_2 + \text{H}^+$	10,0
Arginina		12,0

Nota: * Los valores de pKa dependen de la temperatura, de la fuerza iónica y del micro entorno del grupo ionizable.

Nota: (Dvorkin, 2010)

El grupo imidazol del aminoácido histidina es el principal responsable del poder amortiguador de las proteínas a pH fisiológico, ya que su pKa está próximo a 7. Cuando el pH es bajo, los grupos ionizables están protonados, y la carga neta de la proteína es de signo positivo. Cuando el pH es alto, los grupos ionizables están desprotonados, y la carga neta es de signo negativo. Entre ambas zonas, habrá un pH en el que la carga neta de la proteína es nula y se denomina pH isoeléctrico o punto isoeléctrico (pI), y es característico de cada proteína. Por tanto:

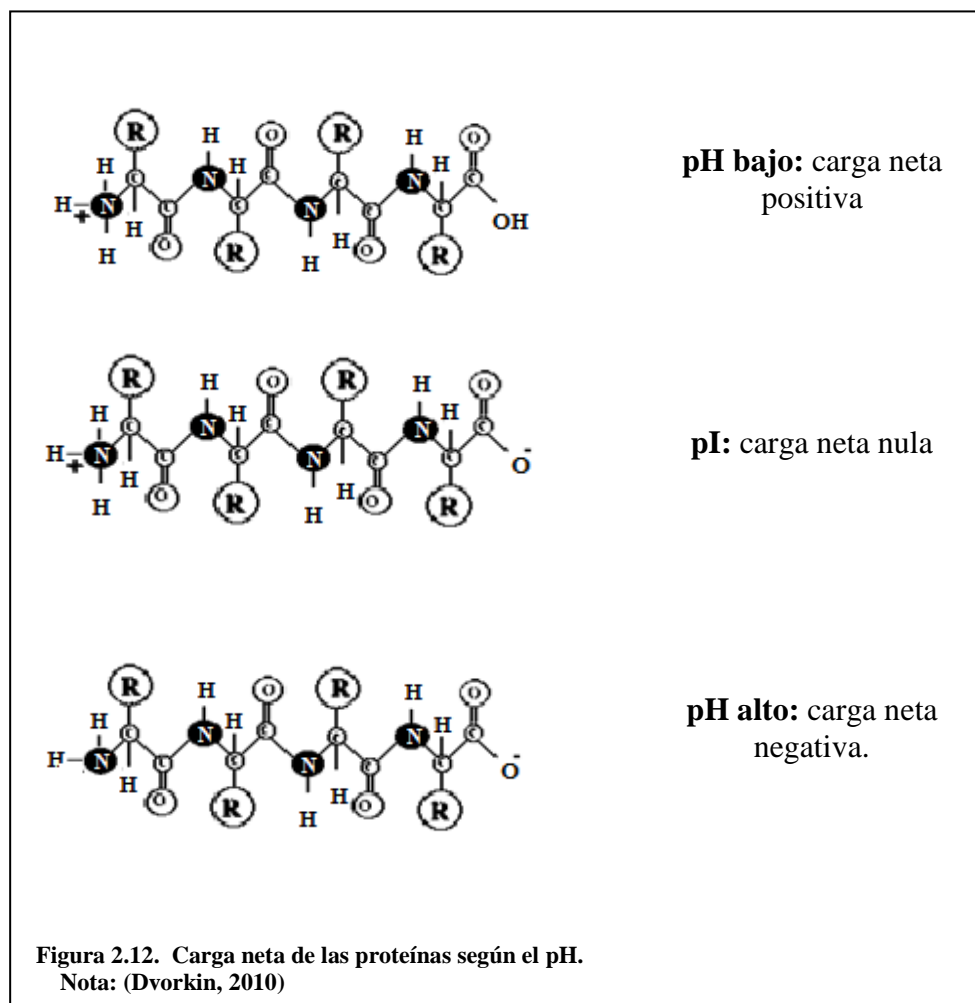
- Cuando el pH es igual al pI, la carga neta de una proteína es cero
- A valores de pH por debajo del pH isoeléctrico la carga neta de la proteína es positiva

- A valores de pH por encima del pH isoelectrico, la carga neta de la proteína es negativa
- Cuando el pH del medio es igual al punto isoelectrico (pI), la solubilidad de una proteína es mínima ya que, al no haber carga neta, desaparecen las repulsiones electrostáticas que podrían impedir la agregación y precipitación de las moléculas de proteína.

En función del punto isoelectrico se pueden distinguir:

- Proteínas ácidas: son las que tienen un punto isoelectrico bajo (como la pepsina), y a pH fisiológico estarán cargadas negativamente.
- Proteínas básicas: son las que tienen un punto isoelectrico alto (como las histonas) y a pH fisiológico estarán cargadas positivamente.

La mayoría de las proteínas intracelulares tienen carga negativa, ya que su pH es menor que el pH fisiológico (que está próximo a 7). (Figura 11).



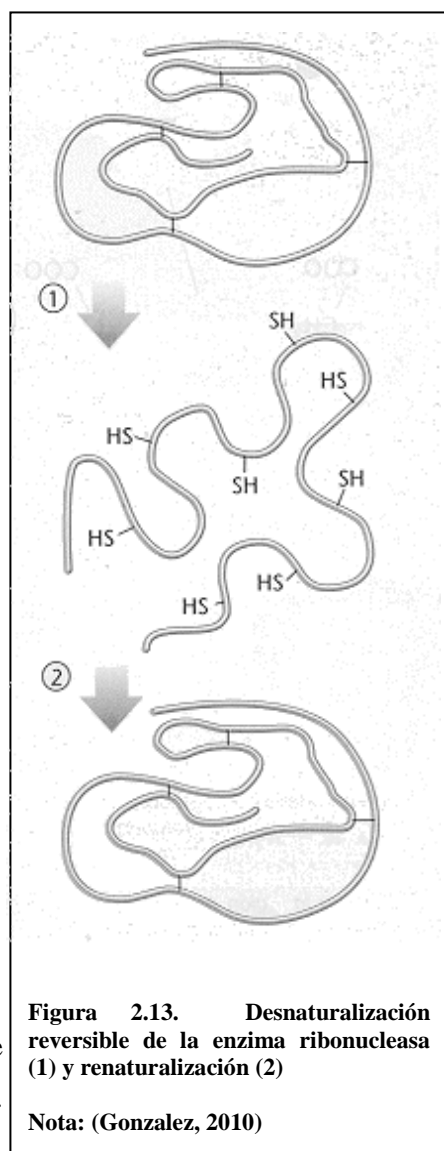
2.2.1.4 Propiedades químicas.

a) Desnaturalización y renaturalización

La desnaturalización de una proteína se refiere a la ruptura de los enlaces que mantenían sus estructuras cuaternaria, terciaria y secundaria, conservándose solamente la primaria. En estos casos las proteínas se transforman en filamentos lineales y delgados que se entrelazan hasta formar compuestos fibrosos e insolubles en agua. Los agentes que pueden desnaturalizar a una proteína pueden ser: calor excesivo; sustancias que modifican el pH; alteraciones en la concentración; alta salinidad; agitación molecular; etc... El efecto más visible de éste fenómeno es que las proteínas se hacen menos solubles o insolubles y que pierden su actividad biológica.

La mayor parte de las proteínas experimentan desnaturalizaciones cuando se calientan entre 50 y 60 °C; otras se desnaturalizan también cuando se enfrían por debajo de los 10 a 15 °C.

La desnaturalización puede ser reversible (renaturalización) pero en muchos casos es irreversible. (Kerstetter, (2005)).

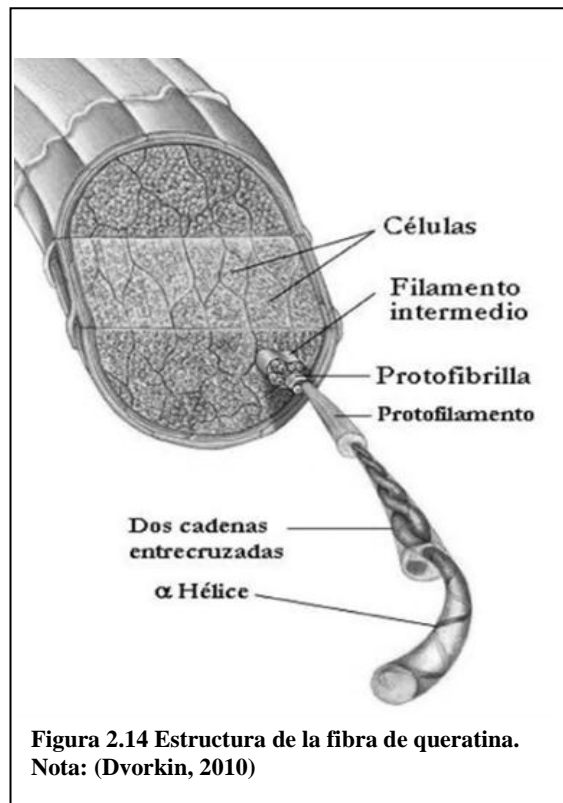


2.2.2 Queratina

Proteína que se presenta en forma de microfibrillas, como si fuesen una maroma o cuerda. Las proteínas siempre están formadas por cadenas de aminoácidos que se enlazan entre sí formando fibrillas.

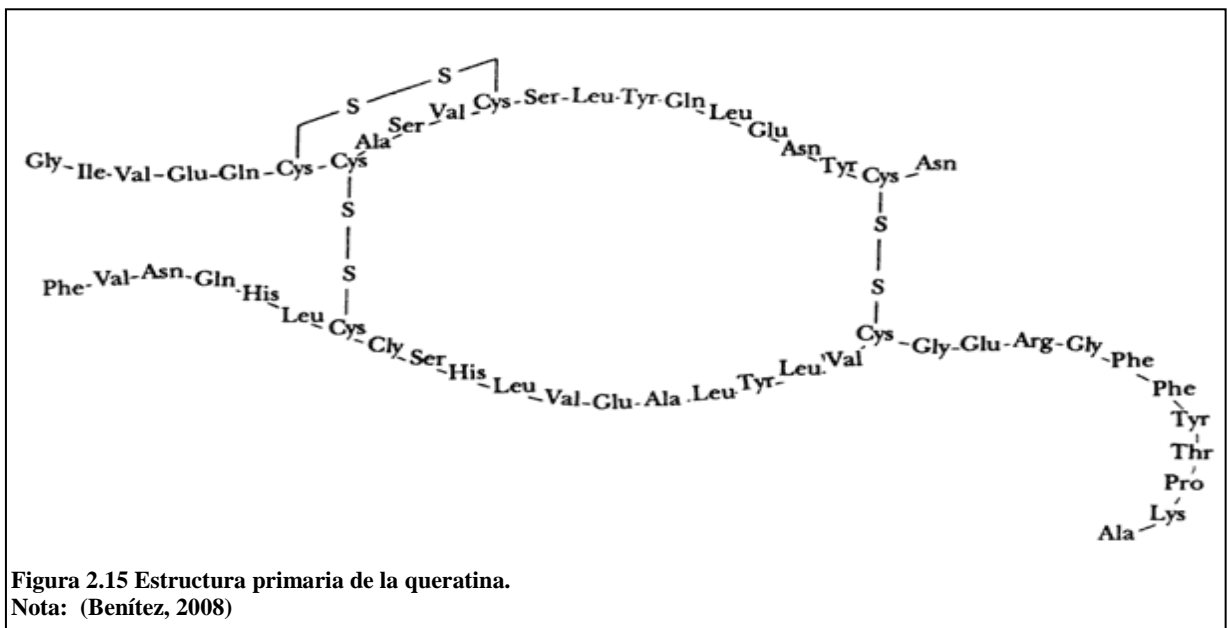
Está muy extendida en la naturaleza: además de encontrarse en la piel, pelo y uñas, se encuentra además en la lana, las plumas, pezuñas, cuernos, etc.

La queratina está compuesta básicamente por un aminoácido de alto contenido de azufre. Las queratinas duras contienen entre un 15 o un 18% de azufre, mientras que las blandas sólo tienen entre un 2 y un 4%.



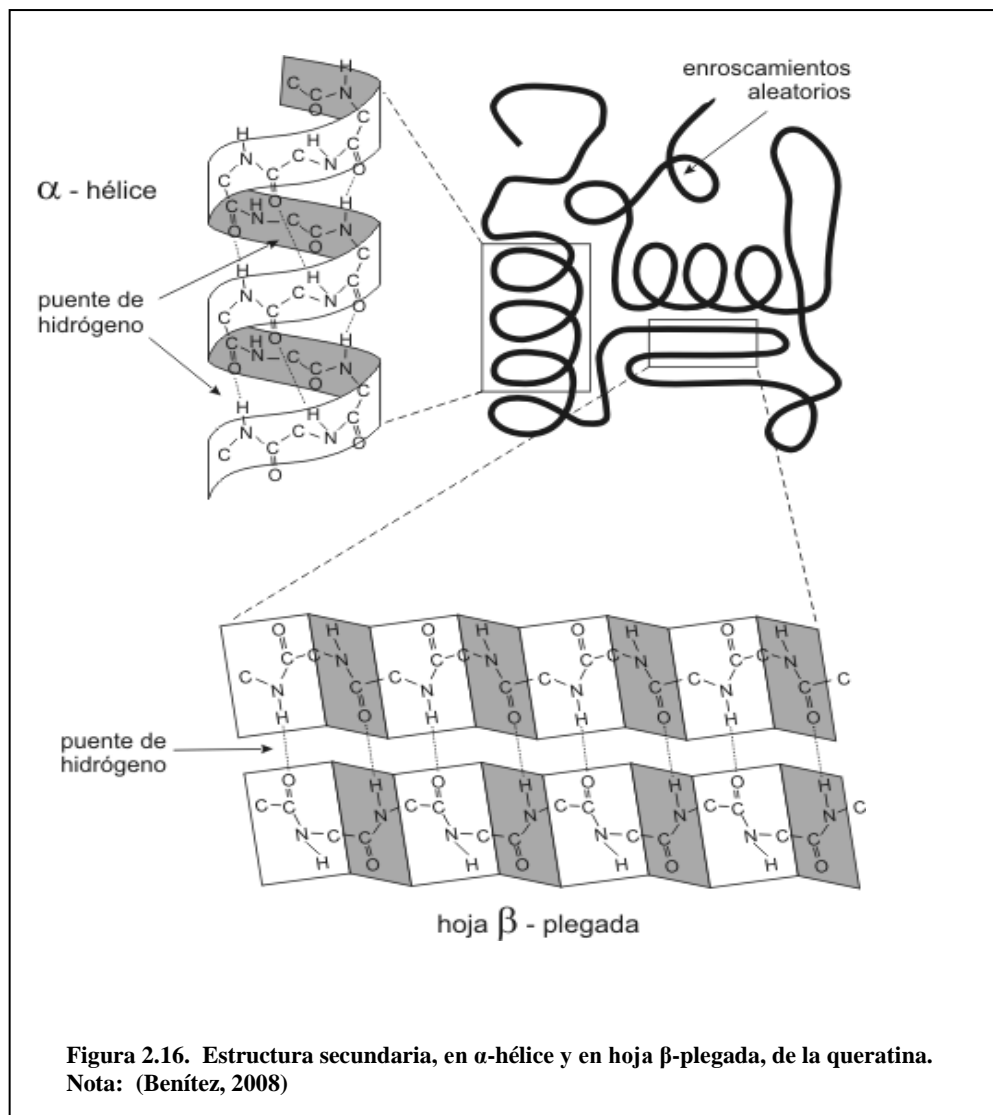
2.2.2.1 Estructura

a) Estructura primaria.-Esta es fundamental para la forma tridimensional de la proteína, cualquier modificación en la secuencia de aminoácidos podría ocasionar un cambio en la estructura tridimensional y afectará la función biológica. (Chamizo J. 1994).

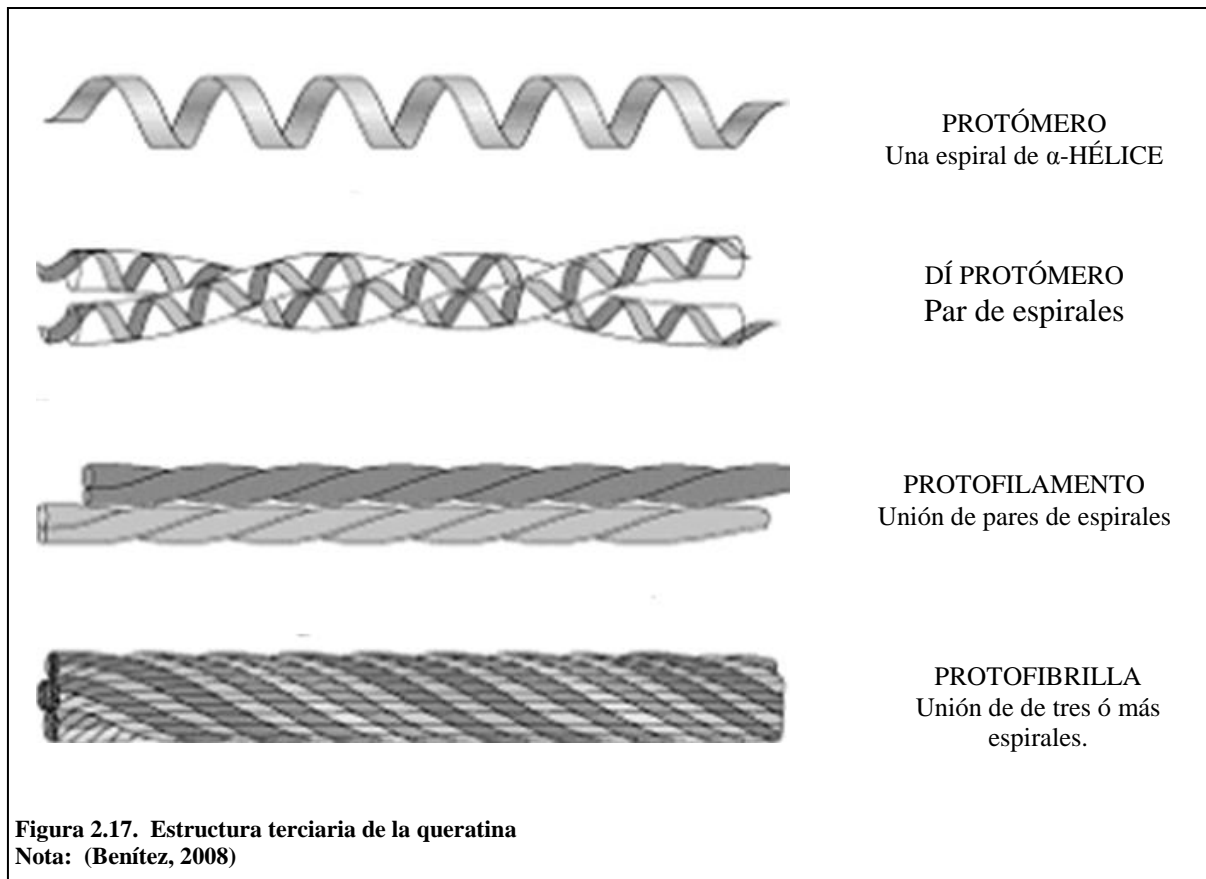


Los aminoácidos más abundantes presentes en la queratina son: Glicina 21,5% (Gli), Fenilalanina 3,9% (Fen), Alanina 11% (Ala), Ácido aspártico 9,3% (Asp), Cisteína 12,2% (CiSH), Lisina 7,3% (Lis), Prolina 2,3% (Pro), Valina 4,2% (Val), Leucina 3,2% (Leu), Isoleucina 1,2% (Ile) Treonina 4,8%(Tre), Otras.19, 1%.

b) Estructura secundaria.- A medida que la cadena de aminoácidos de queratina se va ensamblando, empiezan a tener lugar interacciones entre los diversos aminoácidos de la cadena. Pueden formarse puentes de hidrógeno, entre el hidrógeno del amino de un aminoácido y el oxígeno del carboxilo de otro.



c) Estructura terciaria.- Debido a la interacción de los grupos R de los aminoácidos, la cadena polipeptídica se pliega determinando una intrincada estructura tridimensional.



Los protómeros de queratina se unen entre sí para formar dímeros. El dímero es el primer precursor de la gran molécula de la queratina en el que entran en juego varias proteínas. La unión no tiene lugar de cualquier manera, sino de una forma muy concreta: una subunidad ácida se unirá con una subunidad básica. De esta forma, la macromolécula acabará teniendo la misma proporción de subunidades básicas que de subunidades ácidas.

Posteriormente, dos dímeros se unirán entre sí para formar tetrámeros. Multitud de tetrámeros se unen entre sí, unos detrás de otros, dando lugar a los protofilamentos, varios protofilamentos se unen entre sí, en grupos de unos cuatro protofilamentos, formando una protofibrilla, a partir de estas protofibrillas bien cohesionadas se formarán las grandes moléculas de queratina uniéndose muchas subunidades y torsionándose formando un trenzado.

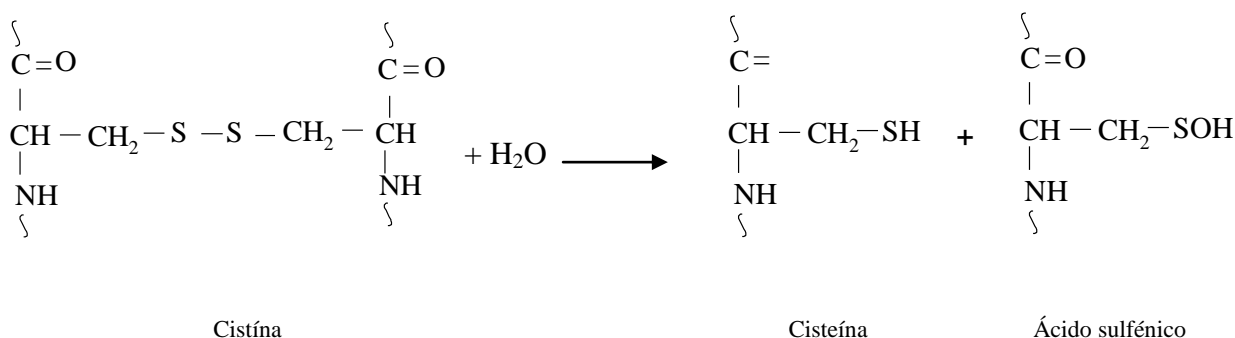
2.2.2.2 Reacciones químicas de la queratina:

La queratina presenta propiedades exclusivas como proteína debido a la presencia de enlaces tales como:

- Enlaces amídicos: Unen un aminoácido con otro para formar la cadena principal, son muy sólidos y solo se rompen con soluciones acuosas concentradas de ácidos y bases fuertes.

- Puentes salinos: se forman entre los grupos de ácidos y básicos de las cadenas laterales. Cuando estos grupos sobrantes no forman enlace amídico, están cerca uno del otro, se origina una atracción entre sus cargas o atracciones electromagnéticas.
- Enlaces di sulfuro: es la unión que existe entre los dos átomos de azufre de la molécula de cistina. Esta unión es fuerte y en la molécula de alfa-queratina suele existir un puente de este tipo cada cuatro vueltas de la espiral.
- Puentes de hidrógeno: se originan por la atracción de átomos con polaridad negativa al hidrógeno con polaridad positiva. Por estos puentes las cadenas no son rectilíneas sino helicoides, girando sobre sí misma como una cinta enrollada. Esta es la alfa-queratina. Estas uniones son débiles en relación a la unión de los aminoácidos y se rompen con facilidad, cuando se mojan con agua, o por estiramiento. Las cadenas que toman así una forma aplanada o estirada, esta forma es la beta-queratina que no es estable y el cabello tiende a recuperar la posición alfa-queratina. (Wilkins, Moore, & Rodriguez, 1990).

a) Hidrólisis de la queratina.-La queratina con agua da una hidrólisis de los enlaces disulfuro de la cisteína para producir la cisteína (tiol) y ácido sulfénico.

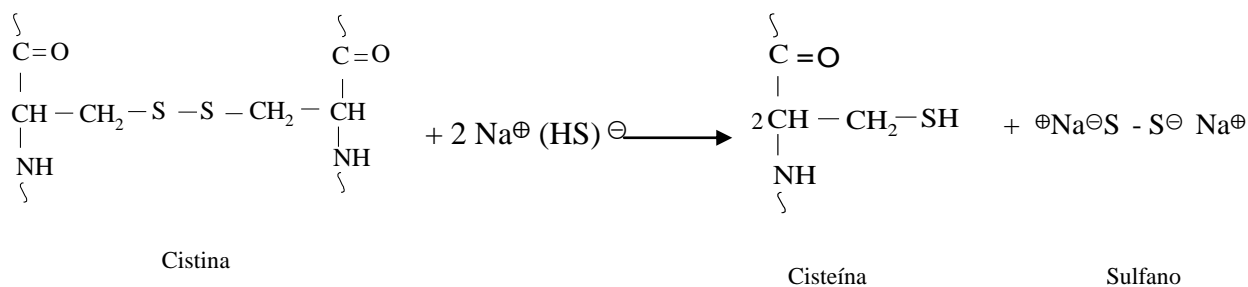


b) Reducción de la queratina con sulfuro de sodio.- Con el Na₂S se favorece la degradación de la queratina, mediante las siguientes reacciones consecutivas:

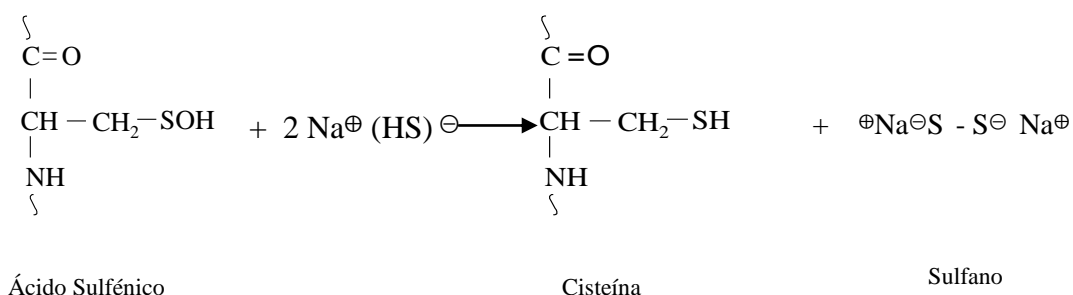
Cuando el Na₂S se disuelve en agua, se produce el NaHS y el medio es básico.



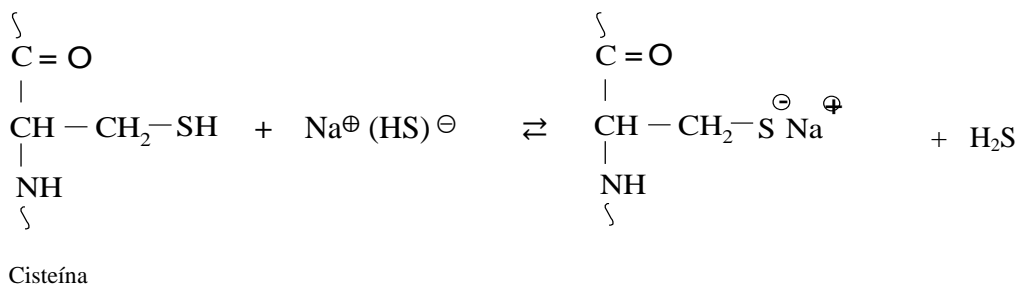
El NaHS reduce la cistina a cisteína.



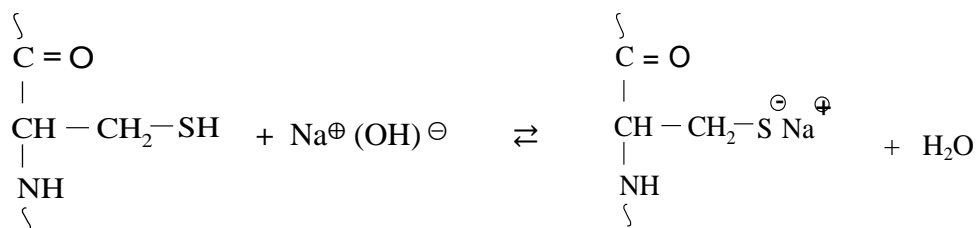
También el NaHS reduce a los ácidos sulfénicos, ayudando a la hidrólisis.



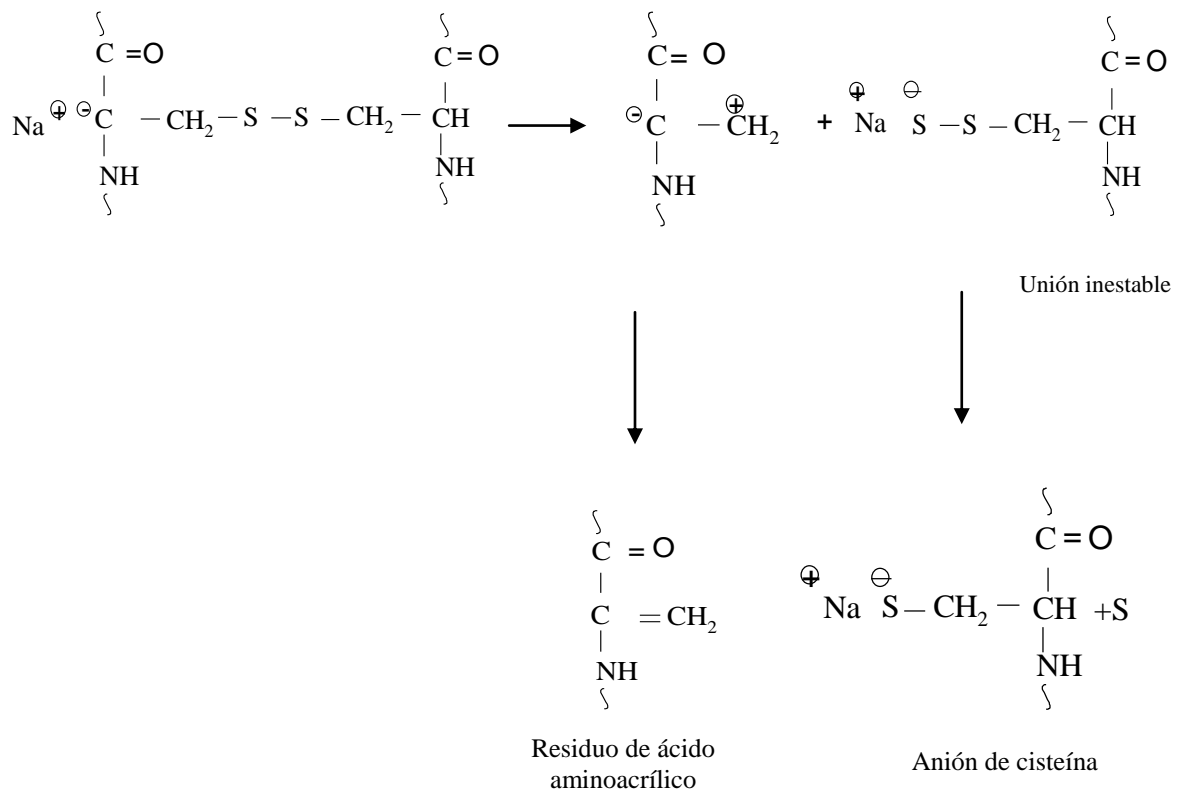
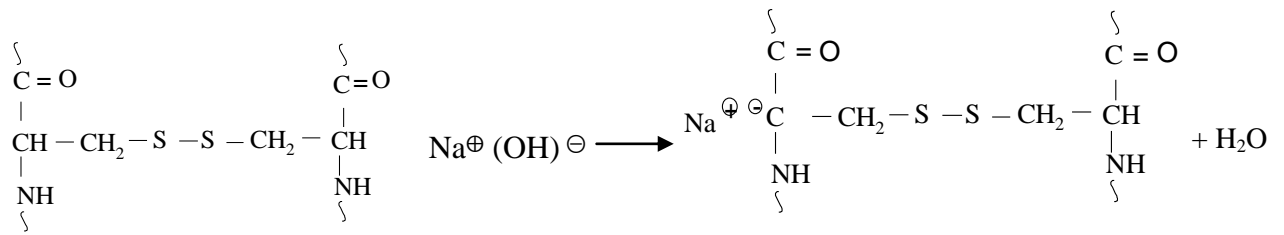
El NaHS propicia al equilibrio siguiente, pero como el H₂S es gas y sale del sistema, el equilibrio se desplaza hacia la derecha, produciendo un mayor gasto del NaHS.



Además, el medio básico favorece la siguiente neutralización.

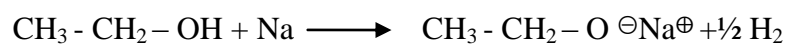


Por otro lado, la presencia de la base hidróxido da otras reacciones, que corresponden al mecanismo de Swan, en el rompimiento de los grupos disulfuro de la queratina.

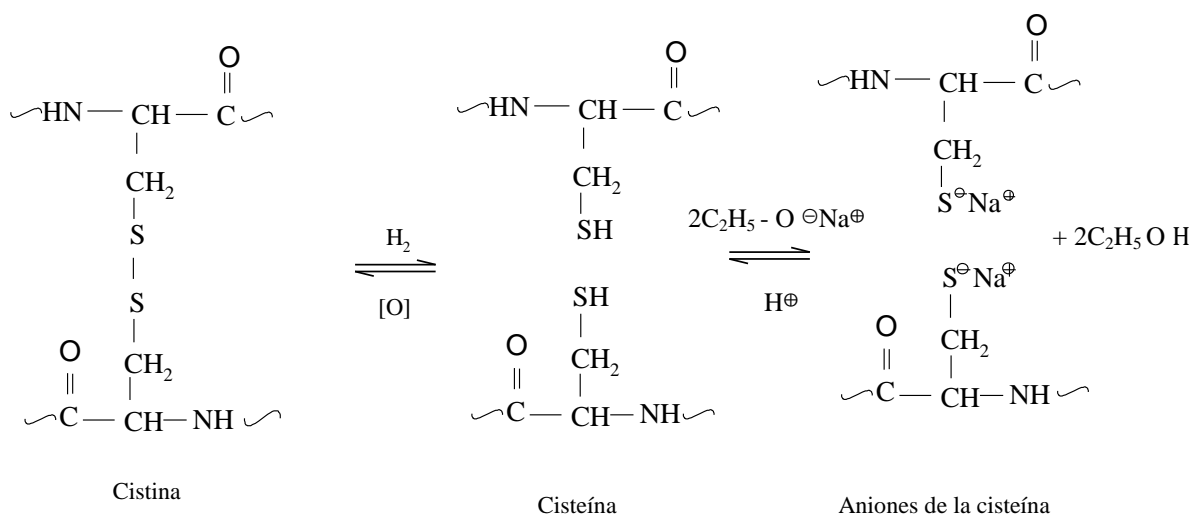


Por lo tanto, como los puentes de disulfuro forman los retículos entre las cadenas polipeptídicas, la estructura reticulada de la queratina es insoluble en agua. Con la solución acuosa de Na_2S se generan tres maneras de romper los puentes de disulfuro, ya indicados, estos son: a) Mediante reducción con NaHS ; b) Por acción del agua, ósea por hidrólisis; c) reacción ácido-base con el NaOH generado en la hidrólisis del Na_2S . (OF1, 1996).

c) Reducción de la queratina con el etóxido de sodio.-El sodio reacciona con el etanol absoluto de forma controlada produciendo hidrógeno gaseoso, el cual es el agente reductor, de los grupos disulfuro de la queratina.



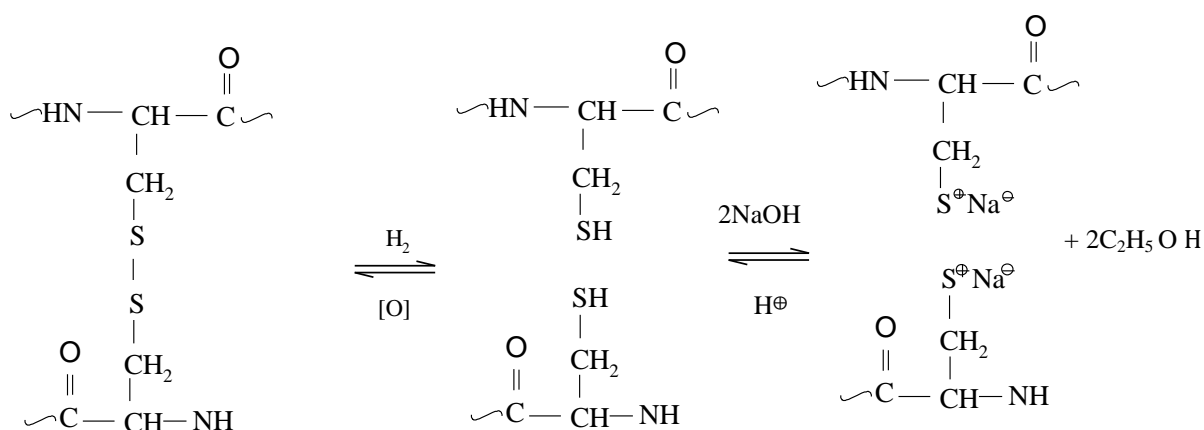
Al igual que el NaOH el etóxido de sodio, que es una base, más fuerte, puede producir las reacciones del mecanismo de Swan, del rompimiento de los enlaces disulfuro, indicados a continuación:



d) Reducción de la queratina con borohidruro de sodio.- El borohidruro de sodio (NaBH_4) reacciona con el agua liberando hidrógeno.



El hidrógeno generado reacciona con los grupos disulfuro de la queratina, en la forma indicada anteriormente.

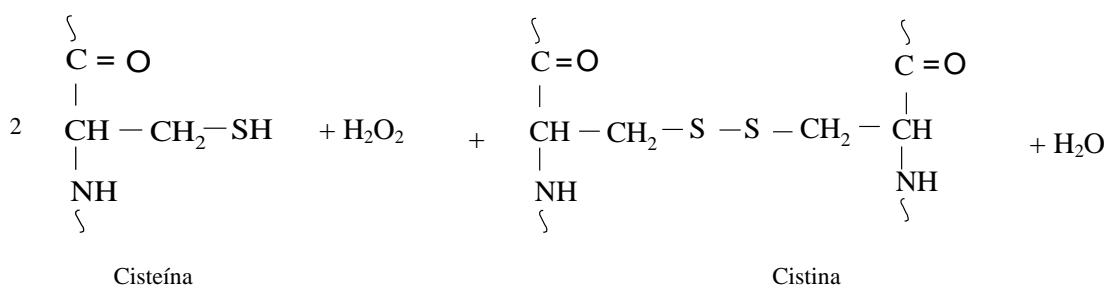


e) Oxidación de la cisteína y de la cistina.- Varios productos oxidantes se pueden emplear para la modificación de enlaces en las proteínas pero sólo, el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) ha prevalecido

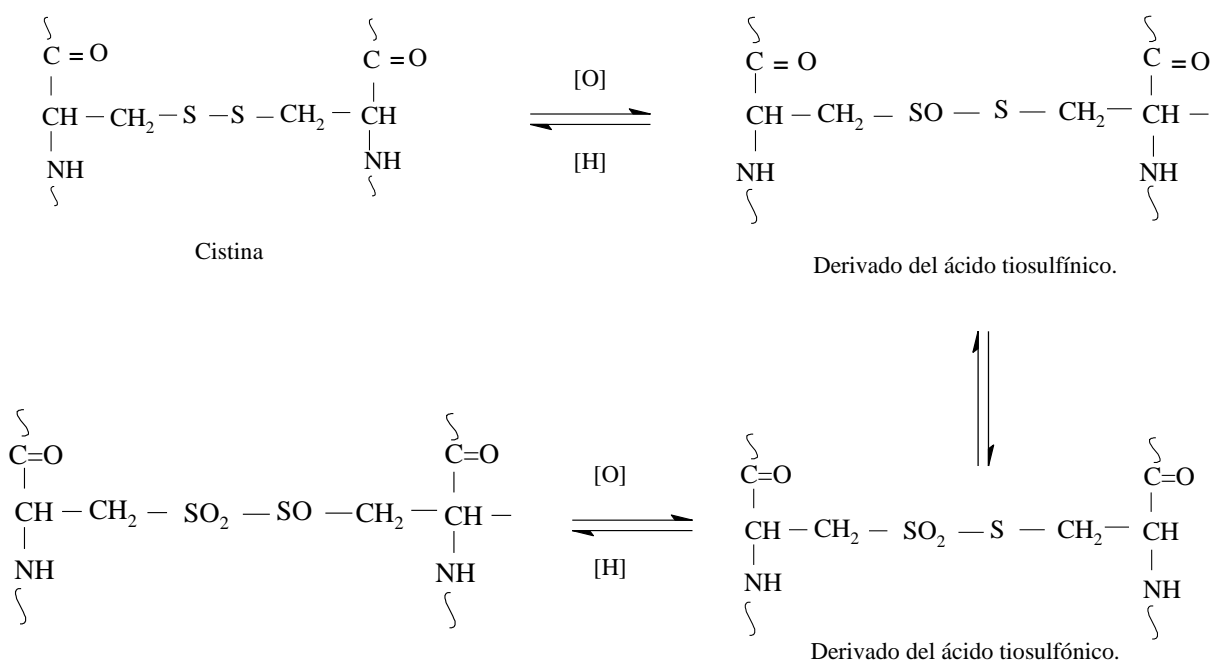
sobre los demás, porque su acción se manifiesta únicamente sobre el enlace disulfuro y no modifica la longitud y composición de las cadenas polipeptídicas.

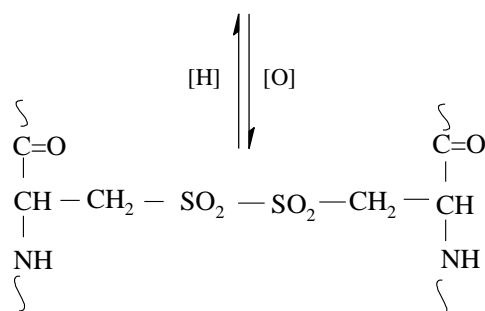
La oxidación con H_2O_2 se realiza en medio alcalino (el más corriente) o en medio ácido (es necesaria la ausencia de impurezas metálicas, por su efecto catalítico en la descomposición del peróxido). (Gacén Guillén, 1976).

El grupo sulhidrilo (-SH) de la cisteína es muy reactivo. La reacción más común es una oxidación reversible que forma un disulfuro. La oxidación de dos moléculas que contiene cisteína forma cistina, que contienen el enlace disulfuro. El enlace puede producirse en una única cadena para formar un anillo o entre dos cadenas separadas para formar un puente intermolecular. Los puentes disulfuro ayudan a estabilizar muchos polipéptidos y proteínas. (Wikipedia, 2012).



Luego el grupo disulfuro de la queratina puede ser oxidado de varias maneras.





Sulfinilsulfona.

Para la obtención de queratina de uso cosmético, la oxidación debe producirse solamente hasta el grupo sulfóxido.

2.2.2.3 Aplicaciones de la queratina

- **En cosmetología**

La queratina es parte de muchos tratamientos cosméticos capilares, protege el interior del cabello, influye en el color y en el brillo, que le afectan los factores mecánicos, químicos o ambientales. Estos modifican la estructura del cabello convirtiéndolo en frágil quebradizo y poroso, la queratina puede evitar el deterioro del cabello por la continua exposición a estos factores. (Wilkins, Moore, & Rodriguez, 1990).

- **En la industria textil**

La queratina, se usa como material de refuerzo en la fabricación de polímeros industriales, tales como: los polietilenos y los polipropilenos, en la producción de pasta de papel o cartón y la fabricación de biomateriales o materiales biomédicos, entre otros.

- **En la industria alimenticia.**

La queratina, que contiene las plumas, es un recurso alimenticio potencial. Luego de un proceso hidrolítico, de estos residuos, ellos se transformarán en una proteína digestible, que es útil como concentrado proteico para rumiantes, ya que optimiza el índice de crecimiento del ganado de engorde y también suple las necesidades de proteína en ganado lechero. Como se extrae de una fuente natural, no

contiene toxinas e inhibidores del crecimiento, pueden ser usada en dietas balanceadas sin limitaciones nutricionales.

- **En la industria agrícola.**

La queratina, presente en las plumas es un recurso adecuado para la elaboración del Compost (proceso de degradación microbiológico aerobio de materiales orgánicos realizado en condiciones controladas, en el que debido a la actividad microbiana se obtiene un abono orgánico) que en conjunto con una mezcla de materiales fecales, orina, tierra y restos vegetales permiten el proceso de compostaje, permitiendo que la queratina lentamente se degrade y se convierta en una sustancias de fácil biodegradación, contribuyendo al desarrollo de los microorganismos que enriquecerán el suelo con nitrógeno y fósforo. (Carlosama, 2010).

2.2.3 Reductores de la queratina y oxidantes de disulfuros y tioles.

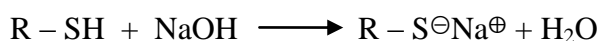
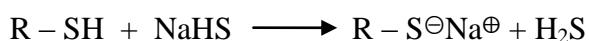
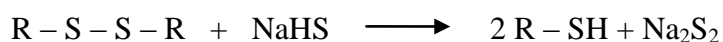
2.2.3.1 Reductores de disulfuros.

a) Sulfuro de sodio (Na₂S).- Sustancia cristalina incolora con buena solubilidad en el agua y mala solubilidad en la mayoría de los disolventes orgánicos, con excepción de la glicerina. Agente queratolítico efectivo para el reblandecimiento de proteínas, tales como la queratina presente en las plumas.

Cuando se disuelve en agua da soluciones fuertemente alcalinas (NaOH). Si está expuesto al aire húmedo, el Na₂S (ó sus hidratos) emiten sulfuro del hidrógeno (gas tóxico), con olor a huevos putrefactos; en contacto con el aire o la luz se oscurece. (Favela, 2012)

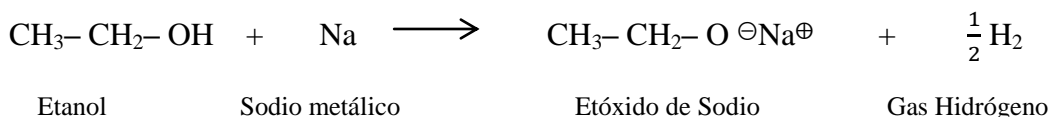
Como el azufre, es menos electronegativo que el oxígeno y sus electrones externos están más esparcidos: los átomos de azufre forman enlaces de hidrógeno más débiles que con el oxígeno.

El Na₂S reduce a los di sulfuros mediante las reacciones:



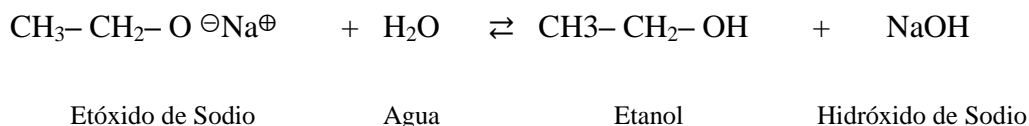
El sulfuro de sodio se utiliza en la preparación de cremas depilatorias. (Publicacion textil, 2007).

b) Etóxido de sodio ($\text{C}_2\text{H}_5\text{O}^\ominus\text{Na}^\oplus$).- Esta sustancia se obtiene mediante la reacción del etanol (que actúa como ácido) con sodio (metálico) para generar gas hidrógeno.

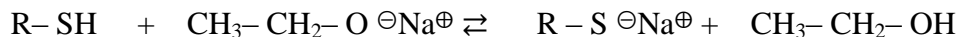


En esta reacción de oxidación-reducción, el metal es oxidado y el ión hidrógeno (protón) es reducido. (Alonso, 2007, p. 22)

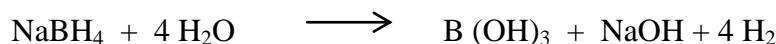
El etóxido de sodio, como es una base más fuerte que los hidróxidos, reacciona con el agua para formar el hidróxido de sodio. (McMurry, 2007, p. 167)



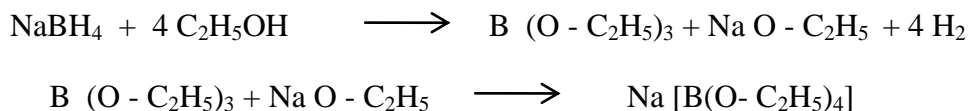
El etóxido de sodio reacciona con el grupo tiol para producir etanol y la sal correspondiente.



c) Boro hidruro de sodio (NaBH_4).- Compuesto inorgánico sólido, en forma granulada (polvo) de color blanco, es un agente reductor más selectivo y menos energético que el NaAlH_4 , en éter es insoluble, es soluble en agua y en alcoholes, aunque reacciona con ellos con relativa lentitud (se acelera si se añade una base fuerte) formando hidrógeno (riesgo de explosión), es estable hasta los 300 °C.



Los compuestos hidroxílicos, como alcoholes o ácidos carboxílicos, también reaccionan lentamente en forma similar.



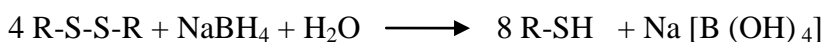
Los disulfuros orgánicos son reducidos por el NaBH_4 mediante las siguientes reacciones:



Ácido Bórico

Borato de sodio

La reacción total es la siguiente:



2.2.3.2 Oxidantes de disulfuros y tioles.

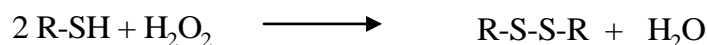
Peróxido de hidrógeno (H_2O_2).- A temperatura ambiente es un líquido incoloro con sabor amargo. Pequeñas cantidades de peróxido de hidrógeno gaseoso se encuentran naturalmente en el aire. El peróxido de hidrógeno es inestable y se descompone lentamente en oxígeno y agua con liberación de calor. Su velocidad de descomposición puede aumentar mucho en presencia de ciertos catalizadores. Aunque no es inflamable, es un agente oxidante potente que puede causar combustión espontánea cuando entra en contacto con materia orgánica o algunos metales, como el cobre, la plata o el bronce. (Escobedos Cisneros, 2007)

Como el H_2O_2 , es un líquido altamente polar, fuertemente enlazado con el hidrógeno, tal como el agua, es un líquido ligeramente más viscoso que éste. Es conocido por ser un poderoso oxidante. Totalmente miscible en agua, e inmiscible con la mayoría de disolventes orgánicos.

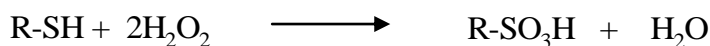
El peróxido de hidrogeno es empleado en procesos de oxidación, ya que provee fácilmente átomos de oxígeno. Con moléculas que tienen enlaces sulfuros, los convierte a azufre a pH ácido, mientras a pH alcalino (superiores a 8) forma sulfato, es decir que, es un fuerte oxidante en medio ácido y, en menor medida en medio básico.

El poder oxidante del peróxido de hidrógeno, es mayor conforme aumente su concentración, y esta manera la tendencia del pH final de la solución es a disminuir.

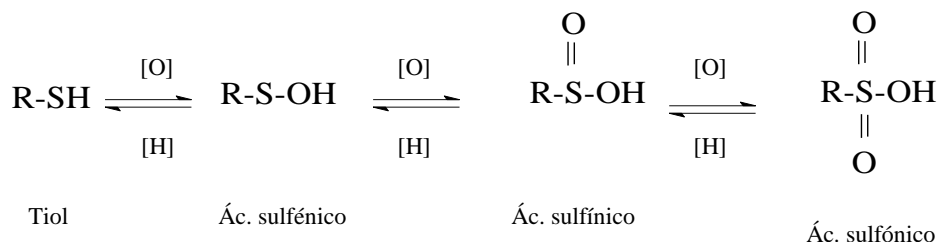
Los tioles se oxidan con H_2O_2 para formar disulfuros, mediante la reacción:



Otro tipo de oxidación de los grupos tiol con H_2O_2 es para producir ácido sulfónico.

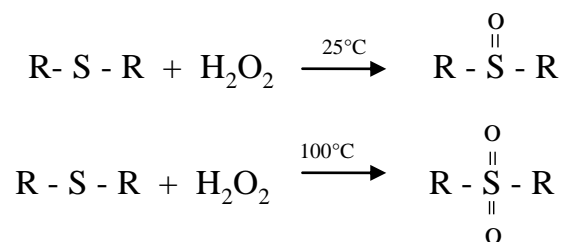


Este producto es el resultado de un proceso de oxidación, que se realiza en las siguientes etapas.



Los enlaces peptídicos próximos a un grupo sulfónico son menos estables a la hidrólisis.

El H_2O_2 al 30%, en medio ácido, oxida un sulfuro a sulfóxido a 25°C y hasta sulfona a 100°C . (Fessenden, 1993).



2.2.4 Magnitudes de las soluciones.

• Índice de refracción

El fenómeno de la refracción consiste en el cambio de dirección, que experimenta la luz al pasar de un medio a otro, debido a un cambio en su velocidad de propagación. Este cambio de velocidad se debe a la interacción entre el campo eléctrico de la radiación y los electrones de enlace del medio.

Mientras más concentrada esta una solución, con sólidos disueltos, cambia más la dirección de la luz. Se ha establecido un índice para cada uno de estos ángulos de refracción, y se puede utilizar este "índice de refracción" para identificar o evaluar una muestra de líquido dada. (Maquimsa, 2012)

El valor del índice de refracción "n" es adimensional y mayor que la unidad, es una constante característica de cada medio: (Hatschek, 1998), y se expresa con la siguiente fórmula.

$$n = \frac{c_o}{v}$$

Donde:

n = índice de refracción del medio.

c_o = velocidad de la luz en el vacío (3×10^8 m/s)

v = velocidad de la luz en el medio .

El índice de refracción de una sustancia a una longitud de onda determinada, se define como el cociente entre el seno del ángulo de incidencia ($\text{sen } i_1$) y el seno del ángulo de refracción ($\text{sen } i_2$):

$$n = \frac{\text{sen } i_1}{\text{sen } i_2}$$

El índice de refracción de una sustancia aumenta con la longitud de onda de la radiación y disminuye con la temperatura.

n es útil para valorar la pureza de un compuesto y para el análisis cuantitativo de mezclas, la composición de una solución se puede determinar, ya que existe una variación lineal entre el índice de refracción y su concentración. (Mauri, Llobat, & Herráez, 2010)

$$n = n_o + kc$$

Donde:

n_o = índice de refracción del disolvente.

k = constante de proporcionalidad

c = concentración del soluto.

Los valores del índice refracción especificado para una solución acuosa de queratina de uso comercial es de: 1.400-1.4350, (Phitother, 2006).

- **Densidad**

Es la magnitud que expresa la relación entre la masa y el volumen de un cuerpo. Se expresa con la fórmula:

$$\rho = \frac{m}{V}$$

Donde:

ρ = densidad.

m = masa.

V = volumen (Hatschek, 1998).

La densidad de una solución aumenta conforme aumenta la masa del soluto.

Para determinar la concentración de una sustancia en una solución, conociendo índice de refracción de la solución y la densidad del disolvente, se puede utilizar la siguiente ecuación: (E. Solano Oria, 1991).

$$C = \frac{1000 \rho_1 (n - n_2)}{M_1(n_1 - n_2)}$$

Donde:

C = Concentración de la solución.

ρ_1 = densidad del disolvente

n = índice de refracción de la mezcla.

M_1 = peso molecular del soluto.

n_1 = índice de refracción del soluto

n_2 = índice de refracción del disolvente.

Los valores de la densidad especificada para una solución acuosa de queratina de uso comercial es de: 1.1500-1.200g/mL. (Phitother, 2006)

- **Viscosidad**

Es la resistencia de un líquido a fluir. A medida que aumentan las fuerzas intermoleculares aumenta la viscosidad y el líquido fluiría más lentamente. Cuanto más concentrado es un líquido mayor es su viscosidad. (Hatschek, 1998).

$$\tau = \mu \cdot D$$

Donde:

τ : esfuerzo cortante [mPa].

μ : Viscosidad [mPa·s]

D: velocidad de deformación [s^{-1}]

Las unidades de viscosidad más utilizadas son los *milipascales por segundo* [mPa·s] y *centiPoise*[cp].

- Se debe tener en cuenta que: 1000mPa·s = 1 Pa·s
- 1 cp = 1 mPa·s
- 1 Poise = 1 g/cm·s

Las sustancias que forman puentes de hidrógeno, tienen generalmente viscosidades altas, cuanto más larga sea la molécula.

La viscosidad tiene que ver con la facilidad con que las moléculas individuales del líquido pueden moverse unas respecto de otras. Por lo tanto, dependen de las fuerzas de atracción entre las moléculas y de la existencia de estructuras características que hacen que las moléculas se enreden.

Los fluidos cosméticos comerciales deben presentar valores entre 1. 00-1,850 cps. (Proquimsa S.A., 2007).

Tabla 2.2 Datos de los líquidos usados en la determinación de la viscosidad a 20°C

LÍQUIDO	Densidad (g/mL)	Viscosidad (cP)	Tiempo(seg)
Acetato de etilo*	0,902	0,45	7,4
Metanol*	0,792	0,59	7,8

Nota: Adaptado: Merck, (2012).* Hoja de seguridad: *Acetato de Etilo*. pp 25,

*Hoja de seguridad: *Metanol* pp 89.

La fórmula para determinar la viscosidad del líquido problema es:

$$\mu_P = K\rho_P t_P - K' \frac{\rho_P}{t_P} \quad (1)$$

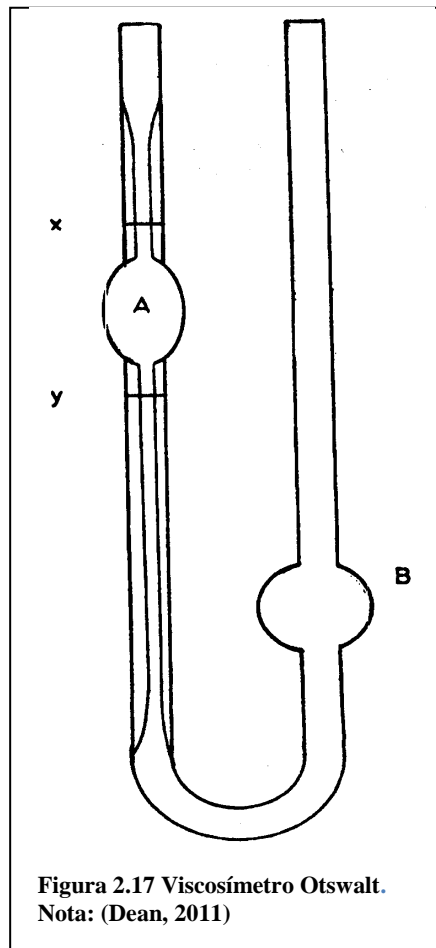
Donde:

μ_P = Viscosidad del líquido problema.

$K\rho_P$ = Constante de viscosidad del líquido problema

t_P = Tiempo de paso entre las marcas (x,y) en seg.

ρ_P = Densidad del líquido problema.



Si los líquidos conocidos son:

- Acetato de etilo (1)

$$\mu_1 = K\rho_1 t_1 - K' \frac{\rho_1}{t_1} \quad (2)$$

- Metanol (2)

$$\mu_2 = K\rho_2 t_2 - K' \frac{\rho_2}{t_2} \quad (3)$$

- Al reemplazar los datos del acetato de etilo en fórmula (2) se tiene:

$$0,45\text{cP} = K(0,902\text{g/mL})(7,4\text{seg}) - K' \frac{0,902\text{g/mL}}{7,4\text{seg}}$$

- Despejando la primera constante, luego de hacer los cálculos en cada término, queda:

$$K = \frac{0,45 + K'(0,1219)}{6,6748} \quad (4)$$

- Después de reemplazar los datos del metanol y la constante anterior en fórmula (3):

$$0,59\text{cP} = \left[\frac{0,45 + K'(0,1219)}{6,6748} \right] (0,792 \text{ g/ml})(7,8\text{seg}) - K' \left(\frac{0,792\text{g/ml}}{7,8\text{seg}} \right)$$

- Despejando la segunda constante y haciendo los cálculos, se obtienen:

$$K' = 3,3558 \quad (5)$$

- Reemplazando (5) en (4) y calculando, da:

$$K = \frac{0,45 + 3,3558'(0,1219)}{6,6748}$$

$$K = 0,1335 \quad (6)$$

- Reemplazando los valores de las constantes de (5) y (6), en la formula (1) queda:

$$\mu_p = (0,1335)(\rho_p t_p) - 3,3558 \left(\frac{\rho_p}{t_p} \right) \quad (7)$$

- Con esta fórmula se calcula la viscosidad de cada solución de queratina luego de la determinación de su densidad y tiempo de paso por el viscosímetro.

CAPITULO III

3. METODOLOGÍA

3.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN.

Esta investigación es de tipo experimental, ya que se realizaron varios experimentos variando las condiciones del proceso de producción de la queratina y en la caracterización de los productos obtenidos, que son necesarios para la hipótesis.

La investigación realizada es cuantitativa, porque se han relacionado las cantidades de sulfuro de sodio y de peróxido de hidrógeno, con las magnitudes de índice de refracción, densidad, y viscosidad, con las que se valoran a las soluciones acuosas de queratina obtenidas.

El proceso de obtención de la queratina cosmética a partir de plumas gallináceas, se realizó en el Laboratorio de Polímeros y plásticos de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Central del Ecuador. La determinación de las magnitudes de índice de refracción, densidad, y viscosidad, de las soluciones de queratina obtenidas en las diferentes unidades experimentales, se realizó en el laboratorio de Coloideoquímica de la misma Facultad.

3.2. POBLACIÓN Y MUESTRA

En esta investigación no se hace referencia a una población determinada, ni a una muestra de la misma, sino a experimentos de laboratorio.

3.3. DISEÑO EXPERIMENTAL

Para demostrar que la variación de la cantidad de sulfuro de sodio y de peróxido de hidrógeno tiene influencia significativa en la densidad, índice de refracción y viscosidad de las soluciones acuosas de queratina obtenidas, se aplicó el siguiente diseño experimental. (Gutierrez, 2004)

3.3.1 Tipo de Diseño.

Como se desea estudiar la influencia de dos variables independientes, la cantidad de sulfuro de sodio y la cantidad de peróxido de hidrógeno, en una variable dependiente (densidad o índice de refracción o viscosidad de la solución acuosa de la queratina obtenida) se eligió el diseño completamente al azar con arreglo factorial AXB.

Características del experimento:

Como sin sulfuro de sodio no se obtuvieron soluciones de queratina, se descartaron los tres primeros tratamientos y quedan los siguientes datos:

- Tratamientos =9
- Repeticiones =3
- Unidades experimentales= 27

3.3.1.1 Variables Independientes:

En el proceso de producción de la queratina, se consideran las siguientes variables.

- **Cantidad de sulfuro de sodio.**

En los niveles:

- $A_1 = 1,0 \text{ g}$
- $A_2 = 3,0 \text{ g}$
- $A_3 = 4,0 \text{ g}$

- **Cantidad de peróxido de hidrógeno. (30vol)**

En los niveles:

- $B_1 = 1,0 \text{ mL}$
- $B_2 = 2,5 \text{ mL}$
- $B_3 = 4,0 \text{ mL}$

3.3.1.2 Variable dependiente.

Esta es una de las magnitudes con las que se valoran a las soluciones acuosas de queratina obtenidas. Para determinar la mejor variable dependiente, se eligieron tres posibilidades:

- Índice de Refracción.
- Densidad.
- Viscosidad.

Los tratamientos se resumen en la siguiente tabla:

Tabla 3.1 Nueve tratamientos del experimento de obtención de queratina por el método del sulfuro de sodio

A	B			
		B₁	B₂	B₃
	A₁	A₁ B₁	A₁ B₂	A₁ B₃
	A₂	A₂ B₁	A₂ B₂	A₂ B₃
	A₃	A₃ B₁	A₃ B₂	A₃ B₃

Nota: A: Cantidad de sulfuro de sodio.

B: Cantidad de peróxido de hidrógeno. (30vol)

Cada uno de los nueve tratamientos se repitió tres veces, luego en total se utilizaron 27 unidades experimentales, en las cuales se determinaron el índice de refracción, la densidad y la viscosidad de la solución de queratina obtenida.

En el diseño factorial AxB se estudió los factores A, B y AB. Por lo tanto, se establecieron los tres pares de hipótesis siguientes: (Saltos, 1993)

- **Hipótesis nula de los efectos:**

H₀: Efecto A=0

H₀: Efecto B=0

H₀: Efecto AB=0

- **Hipótesis alternativa de los efectos:**

H_A: Efecto A≠0

H_A: Efecto B≠0

H_A: Efecto AB≠0

3.3.2 Hipótesis estadística.

Según lo indicado, las hipótesis para del trabajo experimental, debido al efecto de los dos factores y de su interacción, son las siguientes:

a) Hipótesis nula:

- **Factor A.**

El factor A no tiene efecto significativo en la variable dependiente.

- **Factor B.**

El factor B no tiene efecto significativo en la variable dependiente.

- **Interacción Factor A con factor B.**

La interacción de los factores A y B no tiene efecto significativo en la variable dependiente o no existe interacción de los factores A y B.

b) Hipótesis alternativa:

- **Factor A.**

El factor A si tiene efecto significativo en la variable dependiente.

- **Factor B.**

El factor B si tiene efecto significativo en la variable dependiente.

- **Interacción Factor A con factor B.**

La interacción de los factores A y B si tiene efecto significativo en la variable dependiente.

3.3.3 Cálculos

a) ADEVA. (Saltos, Diseño experimental, 1993)

Elaborando una tabla de análisis de varianza, donde el conjunto de respuestas experimentales se consideró como una matriz o tabla de doble entrada. Aquí las combinaciones de los tratamientos están dispuestas en filas y las replicaciones en columnas. Hecho esto, se calculó la sumatoria total y el promedio de estas combinaciones.

Tabla 3.2. Sumatoria de las combinaciones de tratamientos.

Combinaciones de tratamientos	Repeticiones			Sumatoria
	R ₁	R ₂	R ₃	Y _{ij}
A ₁ B ₁	Y ₁₁₁	Y ₁₁₂	Y ₁₁₃	Y ₁₁
A ₁ B ₂	Y ₁₂₁	Y ₁₂₂	Y ₁₂₃	Y ₁₂
A ₁ B ₃	Y ₁₃₁	Y ₁₃₂	Y ₁₃₃	Y ₁₃
A ₂ B ₁	.	.	.	Y ₂₁
A ₂ B ₂	Y ₂₂₁	Y ₂₂₂	Y ₂₂₃	.
A ₂ B ₃
A ₃ B ₁
A ₃ B ₂
A ₃ B ₃	Y ₃₃₁	Y ₃₃₂	Y ₃₃₃	.
Total de repeticiones Y_{...k}	Y _{..1}	Y _{..2}	Y _{..3}	Y _{....}

Nota:: (Saltos, Diseño experimental, 1993)

La tabla anterior contiene los valores necesarios para el cálculo de los siguientes parámetros.

- **Factor de corrección**

$$FC = \frac{(Y)^2}{abn}$$

- **Suma de cuadrados totales**

$$SCT = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^n (Y_{ijk}^2) - FC$$

- **Suma de cuadrados de los tratamientos**

$$SCtr = \frac{\sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b (Y_{ijk}^2)}{n} - FC$$

- **Suma de cuadrados del error experimental**

$$SCEE = SCT - SCtr$$

En el desarrollo del cálculo del diseño experimental, también es importante una matriz que contenga los totales de los tratamientos. Así se facilita el cálculo de las sumas de cuadrados de los efectos A, B y la interacción AB, que resultan de la subdivisión de la suma de cuadrados de los tratamientos.

Tabla 3.3. Arreglos combinatorios

Factores		Factor B			Total Yi..
		B ₁	B ₂	B ₃	
Factor A	A ₁	Y _{11.}	Y _{12.}	Y _{13.}	Y _{1..}
	A ₂	Y _{21.}	.	.	Y _{2..}
	A ₃	Y _{31.}	.	.	Y _{3..}
Total	Y _{.j.}	Y _{.1.}	Y _{.2.}	.	Y _{...}

Nota: Y_{...} es la suma de todas las observaciones

Y_{i..} es el total en el nivel i del factor A

Y_{.j.} es el total en el nivel j del factor B

Nota: (Saltos, Diseño experimental, 1993)

- **Suma de cuadrados total del factor A**

$$SCFA = \frac{\sum_{i=1}^a Y_{i.}^2}{an} - FC$$

- **Suma de cuadrados del factor B**

$$SCFB = \frac{\sum_{j=1}^b Y_{.j.}^2}{an} - FC$$

- **Suma de cuadrados de la interacción AxB.**

$$SCIA = SCT - SCFA - SCFB$$

Con todos los valores calculados de las sumas de cuadrados se elaboró la tabla de análisis de varianza, siguiente:

Tabla 3.4. Análisis de varianza

ANOVA					
F.V	SC	g.l	C.M	F.cal.	F.tab
Total	SCT	abn-1	SCT/(abn-1)	CMT/CME.E	g.l.T/g.l.E.E
Tratamientos	SCTr	ab-1	SCTr/ (ab-1)	CMTr/ CME.E	g.l.Tr/g.l.E.E
F.A	SCA	a-1	SCA/ (a-1)	CMA/ CME.E	g.l.A/g.l.E.E
F.B	SCB	b-1	SCB/(b-1)	CMB/CME.E	g.l.B/g.l.E.E
I.AxB	SCAXB	(a-1)(b-1)	SCAXB/(a-1)(b-1)	CMIAXB/ CME.E	g.l.AxB/g.l.E.E
E.E	SCEE	ab(n-1)	SCEE/ ab(n-1)		

Nota: F.V es la fuente de variación
C.M es el cuadrado medio de los efectos.
Ftab. Estadístico de prueba tabulado
g.l. grados de libertad para cada efecto.
E.E error experimental del análisis
Fcal. Estadístico de prueba calculado.

Nota: (Saltos, Diseño experimental, 1993)

En base a los resultados de tabla se realizó el análisis del estadístico de prueba para aceptar o rechazar las hipótesis de trabajo.

b) Estadístico de prueba (F)

El resultado del cociente de los cuadrados medios de los distintos efectos con respecto al cuadrado del error experimental y se le denomina estadístico de prueba con distribución F.

El resultado experimental se compara con el valor teórico, que está tabulado en la tabla de valores de significancia, para este fin al 5% y al 1% (ANEXO 1). Estos valores se encuentran en las tablas de F, se ubica en la fila de los grados de libertad del efecto y en la columna se busca el valor correspondiente a los grados de libertad del error experimental. Una vez hecho esto se procede a encontrar los valores que corresponden a dichas coordenadas.

c) Criterios de Decisión.

Está en función del resultado de análisis de varianza al establecer la comparación entre los valores de F calculada y tabulada.

Entonces si $F_{cal} \geq F_{tab}$. Se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa.

3.4 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE LA INVESTIGACIÓN.

3.4.1 Obtención de la muestra de plumas de gallináceas.

En la “GRANJA AVÍCOLA RANCHO EDEN”, ubicada en el sector de Pedro Vicente Maldonado, de las aves (de 2 meses de edad y faenadas para su industrialización), se desprendieron las plumas, cuando ellas son sumergidas en agua caliente (a 50-60°C) por 3 a 5 minutos.

Con la cantidad de plumas obtenidas en un día de producción, mediante un proceso de mezclado y cuarteo se obtiene una muestra representativa de 5 kg, la cual se seca a temperatura ambiente por 48 horas. Las plumas secas de la muestra son cortadas manualmente con una tijera, para separar las barbillas de los raquis (eje o tubo central). Los raquis se desechan y se utiliza solamente las barbillas. A esta muestra de barbillas de plumas, aquí se denomina “*las plumas*”.

3.4.2 Lavado y secado de las plumas:

Las plumas se adicionan a un recipiente de plástico con suficiente agua, la agitación es manual y ocasional. Después de 6 horas de lavado se desecha el agua sucia, usando una cesta o malla adecuada, y se repite de igual manera por dos veces más. Finalmente, las plumas húmedas son extendidas en papel aluminio y son secadas en una estufa calentando a 50°C por 48 horas. Las plumas secas se guardan dentro de una funda plástica.

3.4.3 Métodos de obtención de las soluciones de queratina (SQ₁).

En esta investigación se aplicaron tres métodos, que se diferencian aquí con los nombres de las sustancias reductoras. Estos son los siguientes: método del sulfuro de sodio, método del etóxido de sodio y método del borohidruro de sodio.

3.4.3.1 Método I o del sulfuro de sodio

a) Sustancias y reactivos.

- **Sulfuro de sodio (Na₂S.9H₂O)**
 - Procedencia: (M&B, 2012)
 - Sólido blanco de olor a huevo putrefacto.
 - Peso molecular: 240,2 g/mol
 - Densidad a 20°C: 1,85 g/cm³
 - Solubilidad: Soluble en Agua (pH alcalino)
 - Riesgos de exposición: Por descomposición o contacto con ácido puede liberar sulfuro de hidrogeno altamente toxico. Es irritante y corrosivo.

- **Peróxido de hidrógeno (30v).** (Carloerbareagent, 2010)

- Procedencia: (Carloerbareagent, 2010)
- Líquido, incoloro y oxidante fuerte corrosivo.
- Densidad: 1,4 g/cm³
- Peso molecular: 34,0147 g/mol
- Punto de fusión: -26 °C
- Punto de ebullición: 107 °C
- Solubilidad: Miscible con agua.
- pH (30vol.): 2-4.

- **Agua destilada.**

Agua destilada en el laboratorio de Análisis instrumental de la Facultad de Ciencias Química de la Universidad central del Ecuador.

- **Ácido sulfúrico (95-97%).**

- Procedencia: (Merck, 2012):
- Líquido aceitoso incoloro, inodoro, pero concentrado es sofocante e higroscópico.
- Densidad: 1,84 g/cm³ (conc=98%)
- Solubilidad: soluble en agua y alcohol etílico (descompone este último).
- Riesgos de exposición: no es inflamable, ni combustible. Es corrosivo e irritante en contacto con mucosas.

- **Hidróxido de sodio.**

- Procedencia: (Merck, 2012)
- Sólido blanco inodoro.
- Solubilidad: soluble en agua, alcohol y glicerol.
- Riesgos de exposición: corrosivo, higroscópico, reacciona con ácidos y otros materiales. Puede ocasionar irritación.

b) Procedimiento: A un frasco de polietileno seco (de boca ancha, con tapa de rosca y de un litro de capacidad) se adiciona 5 g de plumas y 50mL de solución acuosa de 3g de sulfuro de sodio. El frasco con la mezcla anterior se tapó y se sujetó sobre una plataforma móvil, donde la mezcla se agitó por un día a temperatura ambiente.

La suspensión obtenida se filtró (con papel cualitativo), el filtrado se recogió en otro frasco de vidrio (de boca ancha con tapa y de 500mL de capacidad), luego se adiciona 2.5mL de peróxido de hidrógeno de 30V. El recipiente se tapó y se agitó en la plataforma móvil por 50 minutos, a temperatura ambiente. Luego la mezcla anterior se acidificó hasta pH 4.8, adicionando ácido sulfúrico al 20%. La suspensión formada se decantó por 48 horas y se filtró con papel cualitativo. El sólido se lavó con 50mL de agua destilada, la mezcla del filtrado y el agua del lavado se neutralizó con hidróxido de sodio diluido (hasta pH 7) y se dejó en reposo por 48 horas. Luego se filtró la suspensión, el sólido se lavó con 50mL de agua destilada, el filtrado se agitó por 2 horas y se decantó por 1 día. Hecho esto, se filtra la suspensión (en papel cualitativo) y el filtrado se aforó a 200mL. Esta es la solución acuosa de queratina obtenida. (Florido, 2010)

3.4.3.2 Método II o del etóxido de sodio.

a) Sustancias y reactivos.

- **Etanol absoluto.**

- Procedencia: (Carloerbareagenti, 2010)
- Líquido claro, incoloro, de olor y sabor característicos.
- Densidad a 25°C: 0,787 g/cm³
- Punto de Ebullición: 78.3°C
- Solubilidad: soluble en agua, éter y cloroformo.
- Riesgos de exposición: altamente inflamable.

- **Sodio metálico.**

- Procedencia: (Merck, 2012)
- Sólido blando, olor plateado, que se vuelve gris al exponerse al aire
- Punto de fusión: 97.8 °C
- Densidad a 20°C: 0,968 g/cm³
- Riesgos: producto inflamable, porque produce hidrógeno al contacto con agua.

a) **Procedimiento:** A un frasco de polietileno seco (de boca ancha, con tapa de rosca y de un litro de capacidad) se adicionaron 60mL de etanol absoluto y 2 g de sodio. Luego de que reaccionó el sodio, a la solución de etóxido de sodio se adicionó 5 g de plumas. La agitación inicial de la mezcla es manual y luego en la plataforma móvil por 24 horas, a temperatura ambiente. (Rodríguez, 2009). Hecho esto, se filtró la suspensión (en papel cuantitativo) y el filtrado se aforó a 200mL con agua. Esta es la solución acuosa de queratina obtenida.

3.4.3.3 Método III o del borohidruro de sodio.

a) Sustancias y reactivos.

- **Borohidruro de sodio.**

- Procedencia: (Carloerbareagent, 2010)
- Sólido, Blanco, Inodoro
- Densidad a 20°C: 1,07 g/cm³
- Solubilidad en agua a 20°C: 550 g/l
- pH: 11

- **Tetrahidrofurano.**

- Procedencia: (Carloerbareagent, 2010)
- Punto de ebullición: 85°C
- Líquido no autoinflamable.
- Peligro de explosión: porque puede formar peróxidos explosivos.
- Densidad a 20°C: 0,92 g/cm³
- Solubilidad en agua: poco miscible.

- **Agua destilada.**

Agua obtenida del laboratorio de Análisis Instrumental de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad central del Ecuador.

b) Procedimiento: a un frasco de vidrio pyrex (de 100 mL de capacidad, dotada de tapa) se adicionó 5g de plumas, y la solución de 0,1 g de NaBH₄ en la mezcla de 4mL de THF y 6mL H₂O. El contenido reaccionó a 18 °C por 24 h. La suspensión final se filtró, (en papel cuantitativo) y el filtrado se aforó a 200mL con agua. Esta es la solución acuosa de queratina obtenida. (Rodríguez, 2009).

3.4.4. Determinación del contenido de sólidos totales en las soluciones de queratina obtenidas (SQ_I).

a) Las soluciones de queratina: esta determinación se realizó en los siguientes casos:

- La solución de queratina de “referencia”, que corresponde a una queratina cosmética comercial, cuyas especificaciones son:

Tabla 3.5. Especificaciones de la solución de queratina de referencia ó cosmética ó comercial PHITOEX-PW*.

ORGANOLÉPTICO	
Aspecto	Líquido fluido viscoso
Color	Amarillo
Olor	Característico
FISICOQUÍMICO	
Densidad	
(g/mL)	1,150 - 1,200
Índice de refracción	1,4000 – 1,4350
pH	5,0 – 7,5
Sólidos Totales	
(%)	40,0 – 50,0
Concentración	1/1
	Soluble en agua, etanol al 96% y en soluciones ácida y alcalina diluidas.
Solubilidad	Insoluble en cloroformo.

Nota: Adaptado, Phitother (2009), *Hoja de seguridad: *PHITOEX-PW* “La casa del Químico” Ecuador.

El producto PHITOEX-PW es un hidrolizado de queratina obtenida de plumas de aves, del laboratorio PHITOTHER - Colombia. Los 500g costó 27 dólares en “La casa del Químico” Quito-Ecuador.

- Las tres soluciones de queratina obtenidas con los métodos mencionados (sulfuro de sodio, etóxido de sodio y borohidruro de sodio).
- Las 27 soluciones de queratina obtenidas con el método I en las unidades experimentales (explicadas en 3.4.6)

b) **Procedimiento:** cada caja petri, limpia y seca, se pesa (m_1) en una balanza analítica (pesos con cuatro cifras decimales), a ella se adiciona un volumen (5-10ml) de solución de queratina y se pesa nuevamente para determinar la masa inicial (m_2). La caja petri con su contenido se deja en una

estufa a 150°C por 1h, luego se pesa la caja petri con el residuo sólido (masa final ó m_3). Así se determina la cantidad de sólidos totales (queratina) que estaba disuelta en la muestra. Estos datos están en la tabla 8.

c) **Cálculo:** este se realiza aplicando la siguiente fórmula.

$$Cs = \frac{m_{\text{sólido}}}{m_{\text{solución}}} \times 100 = \frac{m_3 - m_1}{m_2 - m_1} \times 100$$

Donde:

Cs = % de sólidos totales.

m_1 = peso de caja petri.

m_2 = peso de caja petri + queratina líquida

m_3 = peso de caja petri + sólido

$m_{\text{sólido}} = m_3 - m_1$ = peso de sólidos totales

$m_{\text{solución}} = m_2 - m_1$ = peso de solución de queratina

d) **Tiempo de secado necesario:** como las 31 soluciones de queratina (una comercial y 30 obtenidas en la experimentación) tienen diferentes grados de dilución, que se aprecia en los datos de la tabla 7 (los valores de Cs varía desde 42% hasta 75% en los cuatro primeros casos y desde 22% hasta 88% en los siguientes 27 casos), se determinó el tiempo necesario de secado del procedimiento indicado en b). Para esto se varió ese tiempo a 0,5h, 1h y 2h; obteniéndose los siguientes resultados: a 0,5h el secado no es completo en la mayoría de los casos, a 1h el secado es completo en todos los casos (la masa de sólidos es menor que la obtenida a 0,5h de secado, en algunas décimas de gramo) y a 2h el secado también es completo (la masa de sólidos es igual que la obtenida a 1h), en algunos casos parece que hay descomposición debido a que los sólidos son más oscuros que los obtenidos a 1h de secado.

3.4.5 Unidades experimentales del método I.

Como resultado de la comparación de los tres métodos de obtención de la solución de queratina, se eligió el método I porque tiene algunas ventajas con respecto a los otros dos. Por lo tanto, con este método se desarrollaron dos tipos de unidades experimentales:

a) **Variación de la cantidad de Na_2S y de H_2O_2 .** En la siguiente etapa de la investigación, se variaron las cantidades de sulfuro de sodio y de peróxido de hidrogeno para establecer aquellas cantidades que producen la solución de queratina, con características que se aproximen más a las de la queratina cosmética comercial. Para esto, se siguió el procedimiento del numeral 3.4.3.1 y se utiliza tres cantidades de Na_2S (1, 3 y 4g) y tres cantidades de H_2O_2 (1, 2.5 y 4 mL). En cada una de soluciones de queratina obtenidas en las 27 unidades experimentales, se determinó el contenido de sólidos totales, sus datos están en la tabla 6.

b) **Variación de la cantidad de H_2O_2 sin utilizar de Na_2S .** Esta etapa experimental se realiza con otras nueve unidades experimentales, donde no se usa Na_2S y corresponden a los casos de g Na_2S / mL H_2O_2 de: 0/1, 0/2,5 y 0/4, con tres repeticiones cada una. El resultado de 0,92% de sólidos (como promedio de los valores obtenidos en las 9 unidades experimentales), es casi nula (se requería de 435 g de solución para la preparación de 200mL al 2%) de la cantidad de queratina soluble obtenida. Esto indica que, el reactivo Na_2S es imprescindible en el método.

3.4.6 Soluciones de queratina al 2% (SQ_2).

a) **Preparación:** las soluciones de queratina (SQ_1), obtenidas en los tres métodos y en las 27 unidades experimentales, tienen diferentes contenidos de sólidos totales (ver tabla 8); ósea, ellas tienen diferentes concentraciones. Como los valores del índice de refracción, densidad y viscosidad, varían con la concentración de la solución, expresadas aquí por su contenido de sólidos totales (g sólidos / g solución ó % P/P). Para caracterizar las 27 soluciones de queratina obtenidas y poder establecer las características de la solución que más se aproxima a la queratina cosmética comercial, todas estas soluciones deben tener la misma concentración.

El objetivo anterior, se consigue mediante dilución de las soluciones iniciales obtenidas en las 27 unidades experimentales y de la queratina cosmética comercial. En base al valor del contenido de sólido (%sólidos totales), se calcula la cantidad de solución inicial para obtener por dilución una solución al 2%. Estos datos están en la tabla 8.

Tabla 3.6. Datos del contenido de sólidos y la masa para la dilución al 2%, de las queratinas obtenidas y de la queratina de referencia.

N°	SQ ₁	m _{solución} (g)	m _{sólido} (g)	Cs(%P/P)	Msol(g)
I	Método I	5.8926	3.0024	50,95	10,1
II	Método II	4,892	2,879	41,87	10,8
III	Método III	7,987	7,754	75,00	4,5
IV	Referencia	6,1928	3,1226	50,18	7,9
1	A ₁ B ₁	7,7052	1,7763	23,05	17,4
2	A ₁ B ₁	3,7828	0,999	26,41	15,2
3	A ₁ B	6,9454	1,5112	21,75	18,4
4	A ₁ B ₂	6,4744	2,0481	31,63	12,7
5	A ₁ B ₂	7,9915	1,9316	24,17	16,5
6	A ₁ B ₂	6,6976	2,0445	30,53	13,1
7	A ₁ B ₃	9,2194	3,0832	33,44	11,9
8	A ₁ B ₃	7,9007	2,5007	31,65	12,6
9	A ₁ B ₃	6,4098	2,3377	36,47	10,9
10	A ₂ B ₁	6,4037	3,0422	38,12	9,4
11	A ₂ B ₁	8,7752	2,7381	31,20	12,8
12	A ₂ B ₁	8,0009	3,8402	33,87	11,8
13	A ₂ B ₂	6,3699	3,4216	51,67	7,7
14	A ₂ B ₂	5,8623	4,679	51,12	7,8
15	A ₂ B ₂	7,1477	3,1017	51,11	7,8
16	A ₂ B ₃	4,3893	2,4289	45,07	8,9
17	A ₂ B ₃	2,896	3,5988	41,51	10,5
18	A ₂ B ₃	4,2372	2,516	40,34	9,9
19	A ₃ B ₁	6,9997	3,644	57,16	5,4
20	A ₃ B ₁	5,8511	4,6421	62,27	5,0
21	A ₃ B ₁	6,304	5,4511	57,48	4,6
22	A ₃ B ₂	7,9994	3,6238	88,05	4,6
23	A ₃ B ₂	8,0911	4,0015	87,77	4,6
24	A ₃ B ₂	8,0344	5,5561	68,66	4,0
25	A ₃ B ₃	7,1575	5,7449	80,26	4,0
26	A ₃ B ₃	6,8519	6,2912	80,12	5,8
27	A ₃ B ₃	8,2721	6,892	83,31	4,8

Nota: SQ₁=soluciones de queratina obtenida
m_{solución}= masa de solución de queratina
m_{sólido}= masa de sólidos totales.
Cs= contenido de sólidos totales(%)
Msol=masa de solución para dilución a 200ml al 2%.

b) Caracterización.- Las soluciones de queratina al 2% p/v (SQ₂) obtenidas según los datos de la tabla anterior son caracterizadas mediante sus valores del índice de refracción, de densidad y de viscosidad.

b₁) Determinación del índice de refracción: para esta determinación se utiliza el refractómetro marca Abbe Carl Zeiss, agua destilada y las soluciones acuosas de queratina al 2%.

Tabla 3.7. Datos del índice refracción a 20°C de las soluciones al 2% de las queratina obtenidas y de la queratina de referencia.

LÍQUIDO	REPETICIONES			PROMEDIO	
	I	II	III	Σ	\bar{X}
Agua destilada	1,333	1,333	1,333	3,999	1,333
SQ ₂ de referencia	1,419	1,419	1,418	4,256	1,419
SQ ₂ del método I	1,416	1,418	1,417	4,251	1,416
SQ ₂ del método II	1,375	1,378	1,382	4,135	1,378
SQ ₂ del método III	1,523	1,514	1,515	4,552	1,517
SQ₂ de las unidades experimentales					
A ₁ B ₁	1,279	1,279	1,289	3,847	1,282
A ₁ B ₂	1,305	1,369	1,378	4,052	1,351
A ₁ B ₃	1,389	1,366	1,389	4,144	1,381
A ₂ B ₁	1,399	1,371	1,391	4,161	1,387
A ₂ B ₂	1,418	1,417	1,417	4,252	1,417
A ₂ B ₃	1,459	1,458	1,458	4,375	1,458
A ₃ B ₁	1,478	1,489	1,469	4,436	1,479
A ₃ B ₂	1,519	1,512	1,512	4,543	1,514
A ₃ B ₃	1,532	1,523	1,515	4,570	1,523

Nota: SQ₂ =solución de queratina al 2% P/V.

El procedimiento seguido es el siguiente:

- El porta muestras y el espejo del refractómetro deben estar limpios.
- Colocar unas gotas de agua destilada en el porta muestras y asegurarlo.
- Observar por el lente ocular derecho el campo óptico y con el tornillo lateral definir el campo óptico.
- Con el tornillo del lado izquierdo ubicar la línea de división del campo óptico en el punto central marcado con una cruz.
- Observar por el lente ocular izquierdo y anotar el dato obtenido.
- El índice de refracción del agua =1,333.
- Realizar el mismo procedimiento con el líquido problema.

- Después de cada medición siempre lavar y secar el porta muestras.

Los valores obtenidos del índice de refracción con las soluciones de queratina obtenidas y el agua destilada se reúnen en la anterior tabla:

b₂) Determinación de la densidad: la densidad de las soluciones de queratina se determinó con un picnómetro de 10mL de capacidad, el procedimiento seguido es el siguiente:

En una balanza analítica, se pesa el picnómetro vacío y seco, luego este se llena con agua y se sujeta dentro de un baño a 20°C (±1°C) por 15min. El exceso de líquido se retira con una tira de papel filtro, cuando el agua está a 20°C se retira el picnómetro del baño, se seca exteriormente el picnómetro lleno y se pesa en la misma balanza. Siguiendo el mismo procedimiento, se determina el peso del picnómetro lleno con la solución de queratina al 2%. Con los datos obtenidos, se calcula la densidad de la solución de queratina, con la siguiente fórmula.

$$D = \frac{m_3 - m_1}{m_2 - m_1} \times \text{densidad agua}$$

Donde:

$m_3 = \text{peso del picnómetro} + \text{solución de queratina.}$

$m_2 = \text{peso del picnómetro} + \text{agua}$

$m_1 = \text{peso del picnómetro vacío.}$

Reemplazando los datos obtenidos, se tiene:

$$D = \frac{m_3 - 19,2916g}{9,7910g} \times 0,998 \text{ g/mL}$$

Peso picnómetro vacío= 19,2916g

Peso del agua que llena en el picnómetro= 9,7910g.

Tabla 3.8. Datos de la densidad a 20°C de las soluciones al 2% de las queratina obtenidas y la queratina de referencias.

LÍQUIDO	REPETICIONES			PROMEDIO	
	I	II	III	Σ	\bar{X}
Agua destilada	1,0110	0,999	1,0020	3,0120	1,0020
SQ ₂ de referencia	1,1598	1,1723	1,1698	3,4949	1,1650
SQ ₂ del método I	1,1698	1,1698	1,1734	3,5060	1,1687
SQ ₂ del método II	0,7983	0,8021	0,7891	2,3847	0,7949
SQ ₂ del método III	0,9123	0,9278	0,9178	2,7524	0,9175
SQ₂ de las unidades experimentales					
A ₁ B ₁	1,0165	1,1478	0,9974	3,1617	1,0518
A ₁ B ₂	1,1219	1,1025	1,09187	3,3163	1,1032
A ₁ B ₃	1,1745	1,1278	1,1114	3,4137	1,1379
A ₂ B ₁	1,1447	1,1287	1,1421	3,4155	1,1385
A ₂ B ₂	1,1698	1,1698	1,1734	3,5060	1,1687
A ₂ B ₃	1,3362	1,2571	1,3674	3,8607	1,2869
A ₃ B ₁	1,4498	1,4587	1,4797	4,1541	1,3988
A ₃ B ₂	1,4498	1,4587	1,4797	4,3882	1,4598
A ₃ B ₃	1,4308	1,3789	1,3935	4,2032	1,4648

Nota: SQ₂ = solución de queratina al 2% P/V.

b₃) *Determinación de la viscosidad:* en esta determinación se usó el viscosímetro de Ostwald (ver figura 23 en la página 32.), un baño de temperatura constante, agua destilada, acetato de etilo, metanol y las soluciones de queratina al 2%.

Tabla 3.9. Datos de los tiempos en la determinación de la viscosidad a 20°C

Líquido	REPETICIONES			PROMEDIO
	I	II	III	
Agua destilada	6,9	7,3	6,8	7,0
Metanol	7,1	7,0	7,2	7,1
Acetato de etilo	6,1	6,1	6,1	6,1
SQ ₂ de referencia	8,1	8,2	7,9	8,1
SQ ₂ del método I	8,1	7,9	7,7	7,9
SQ ₂ del método II	7,3	7,4	7,1	7,3
SQ ₂ del método III	8,2	8,2	8,1	8,2
SQ₂ de las unidades experimentales				
A ₁ B ₁	6,3	6,2	6,5	6,3
A ₁ B ₂	6,6	6,2	6,8	6,5
A ₁ B ₃	6,8	7,2	7,3	7,1
A ₂ B ₁	7,9	7,3	7,4	7,5
A ₂ B ₂	8,1	7,9	7,7	7,9
A ₂ B ₃	8,4	8,3	8,5	8,4
A ₃ B ₁	8,5	8,5	8,5	8,5
A ₃ B ₂	8,4	8,5	8,8	8,6
A ₃ B ₃	8,8	8,7	8,9	8,8

SQ₂ = solución de queratina al 2% P/V

Se procedió de la siguiente manera:

- Mantener el baño a 20°C
- Llenar el viscosímetro con un líquido (agua, acetato de etilo, metanol o solución de queratina).
- Sujetar el viscosímetro con una pinza.
- Introducir el viscosímetro, dentro del baño a 20°C.
- Succionar el líquido, con una pera de caucho, hasta que su nivel esté sobre la marca o enrase superior del viscosímetro (tubo de menor diámetro) y en seguida medir el tiempo de paso del líquido entre las marcas (enrase superior **x** e inferior **y**).
- Hacer otras tres mediciones independientes, con cada líquido.
- Después de las mediciones realizadas con un líquido, limpiar el viscosímetro con agua, luego con alcohol y secar con aire.

- Si el tiempo de paso de un líquido entre las marcas es menor a 100 seg, se debe emplear dos líquidos puros (con sus datos de densidad y viscosidad), para despejar las constantes de los líquidos aplicando las ecuaciones de la página 33, los datos de la tabla 2 de la página 31 y los datos de la tabla 11 de la página 52.

Tabla 3.10. Datos de la viscosidad (μ) a 20°C de las soluciones de queratina obtenidas y la queratina cosmética.

Densidad ($\frac{g}{mL}$)	Líquidos	tiempo (seg)				Viscosidad (cP)
		I	II	III	(\bar{X})	
1,000	Agua destilada	8,9	9,3	9,2	9,1	0,9107
0,7918	Metanol	7,9	8,2	8,1	8,1	0,6518
0,902	Acetato de etilo	6,9	6,8	7,2	7,1	0,5902
1,175	SQ ₂ de referencia	7,3	7,2	7,9	7,5	0,6788
1,1385	SQ ₂ del método I	7,1	7,3	7,4	7,3	0,6152
0,7949	SQ ₂ del método II	9,3	9,4	9,5	9,4	0,9852
0,9175	SQ ₂ del método III	7,6	7,4	7,3	7,4	0,6113
SQ ₂ de las unidades experimentales						
1,052	A ₁ B ₁	6,3	6,2	6,5	6,3	0,3405
1,1032	A ₁ B ₂	6,6	6,2	6,8	6,5	0,4060
1,1379	A ₁ B ₃	6,8	7,2	7,3	7,1	0,574
1,1385	A ₂ B ₁	7,1	7,3	7,4	7,3	0,6152
1,1687	A ₂ B ₂	7,5	7,7	7,2	7,5	0,681
1,2869	A ₂ B ₃	7,9	8,1	8,1	8,0	0,893
1,3988	A ₃ B ₁	8,3	8,4	8,4	8,4	1,086
1,4598	A ₃ B ₂	8,4	8,5	8,8	8,6	1,174
1,4648	A ₃ B ₃	8,8	8,7	8,9	8,8	1,241

CAPÍTULO IV

4. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

4.1 RESULTADOS.

Los datos y los resultados obtenidos en esta de investigación son los siguientes:

4.1.1 Datos de la muestra de plumas:

De los 5kg de plumas de color blanco crema, proveniente de la avícola, luego del proceso de mezclado, cuarteado y secado, se obtuvo una muestra de 1.62kg de plumas, la misma que produjo 640g de barbillas y 980g raquis.

Las barbillas durante el proceso de lavado se aglomeran y después de secado mantienen su color y apariencia.

4.1.2 Resultados de la caracterización de las soluciones de queratina obtenidas en los tres métodos.

a) En el método I.- A temperatura ambiente y con agitación continua, los 50mL de la solución acuosa de Na_2S , reaccionó lentamente con los 5g de plumas, luego de un día la coloración gris inicial cambia a amarillenta, la suspensión tiene apariencia cremosa y mantiene el mal olor del H_2S ; las barbillas flotan en el líquido y se aglomeran, como motas de algodón.

Luego se filtra (en papel cualitativo) esta suspensión, en el papel filtro quedó las barbillas aglomeradas, que se lavó con 50ml de agua destilada. Cuando al filtrado que contiene el agua del lavado, se adicionó 2,5mL de H_2O_2 de 30V se produce una ligera reacción efervescente (desprende burbujas). Luego de 50 minutos de agitación de la mezcla, a temperatura ambiente, queda un líquido traslucido amarillo claro, y un sedimento de color crema. Con 23gotas de H_2SO_4 al 20% se acidificó la mezcla a pH 4,8 y quedó una suspensión opalescente, que luego de 50 h de reposo se filtró. El precipitado se lavó con 50mL de agua y la mezcla se neutralizó con 14 gotas de NaOH diluido y luego de 48h quedó una suspensión. Al filtrar se obtiene un precipitado blanco crema, que se lavó con 50mL de agua siendo parte del filtrado. Este líquido se agitó por 2 horas y la suspensión se decantó por un día. Al filtrar esta suspensión (con papel cuantitativo), el filtrado es amarillo y se aforó a 200mL con agua. Esto es la solución de queratina cosmética obtenida.

Aplicando el procedimiento descrito en el numeral 3.4.3.1, a partir de 5g de barbillas de las plumas y con 3 g de Na_2S , y 2,5 mL de H_2O_2 de 30V, se obtiene 250ml de la solución de queratina, cuyas características del líquido están en la siguiente tabla.

Tabla 4.1. Características de la solución de queratina obtenida por el método I.

Características	Resultado
Color	Amarillo claro
Olor	inodora
Transparencia	Trasparente
Sólidos totales	50,95%
Densidad	1,1687g/mL*
Índice de refracción	1,4161*
Viscosidad	0,6152cP*

Nota: *Promedio de tres repeticiones y corresponde a la solución al 2%

b) En el método II.- El sodio reaccionó rápidamente con el etanol observándose gran desprendimiento de gas hidrogeno y formación de una solución opalescente. Cuando se adicionó las plumas a la solución anterior se cerró los frascos. Después de 24 horas, las plumas perdieron su apariencia natural, la suspensión tiene color naranja claro y es opalescente, (con olor es fuerte a etanol y tiene burbujas). Al filtrar la suspensión queda un aglomerado de plumas de color crema, algo anaranjado, y el filtrado se aforó a 250ml con agua y las características del líquido obtenido son:

Tabla4.2. Características de la solución de queratina obtenida por el método II.

Características	Resultado
Color	Amarillo naranja
Olor	A etanol.
Transparencia	Opaco
Sólidos totales	41,87% *
Densidad	0,7949g/mL *
Índice de refracción	1,378*
Viscosidad	0,9852cP*

Nota: *Promedio de tres repeticiones y corresponde a la solución al 2%

c) En el método III.- Luego de las 24h a 18 °C, las plumas reaccionaron con NaBH₄ en THF: H₂O (los vapores son sofocantes) formando un líquido turbio de color amarillo dorado y en las paredes del frasco quedan adheridos sólidos gelatinosos de color amarillo. Cuando se filtró esta

suspensión se obtiene un precipitado semisólido amarillo y un filtrado casi café, que al diluir con agua hasta el 2% tiene color amarillo dorado opalescente y olor sofocante.

Tabla 4.3. Características de la solución de queratina obtenida por el método III.

Características	Resultado
Color	Amarillo dorado
Olor	A THF.
Transparencia	Opaco
Sólidos totales	75.00%
Densidad	0,9175g/mL *
Índice de refracción	1,517*
Viscosidad	0,6113cP*

Nota: *Promedio de tres repeticiones y corresponde a la solución al 2%

4.1.3 Resultados de la comparación entre las queratinas obtenidas por los tres métodos y la queratina cosmética (comercial).

Al comparar las soluciones de queratina obtenidas en los métodos I, II, y III con la solución de queratina cosmética, se observan las siguientes diferencias en sus características:

Tabla 4.4. Diferencias en las características de las soluciones de queratina obtenidas y la solución de queratina cosmética.

Apariencia	Soluciones de queratina.			
	Método I	Método II	Método III.	Cosmética
Color	Miel	Amarillo-naranja	Amarillo-dorado	Miel
Olor	Inodoro.	A etanol.	A THF.	Inodoro.
Transparencia	T	T	No T	No T
Sólidos totales (%)	50,95	41,8	75,00	50,18
Densidad (g/ml)	1,1687	0,7949	0,9175	1,0020
Índice de refracción	1,416	1,378	1,517	1,419
Viscosidad	0,6152	0,9852	0,6113	0,6788

Nota: T= Transparente

THF= Tetrahidrofurano.

4.1.4 Resultados de la caracterización de las soluciones de queratina obtenidas en la variación de las cantidades de Na_2S y de H_2O_2 .

a) **Promedios del contenido de sólidos de las soluciones de queratina al 2% obtenidas.-** En las unidades experimentales, los resultados obtenidos están en la tabla 17. Su variación con las diferentes cantidades de los reactivos se aprecia mejor en la figura 24.

Tabla 4.5. Porcentaje de sólidos de soluciones de queratina obtenidas al variar las cantidades de Na_2S y H_2O_2 .

<i>gNa₂S</i>	<i>1</i>	<i>1</i>	<i>1</i>	<i>3</i>	<i>3</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>4</i>	<i>4</i>
<i>mL H₂O₂</i>	<i>1</i>	<i>2,5</i>	<i>4</i>	<i>1</i>	<i>2,5</i>	<i>4</i>	<i>1</i>	<i>2,5</i>	<i>4</i>
<i>% sólidos</i>	<i>24,7</i>	<i>28,8</i>	<i>33,9</i>	<i>47,1</i>	<i>51,8</i>	<i>55,6</i>	<i>59,0</i>	<i>63,1</i>	<i>72,1</i>

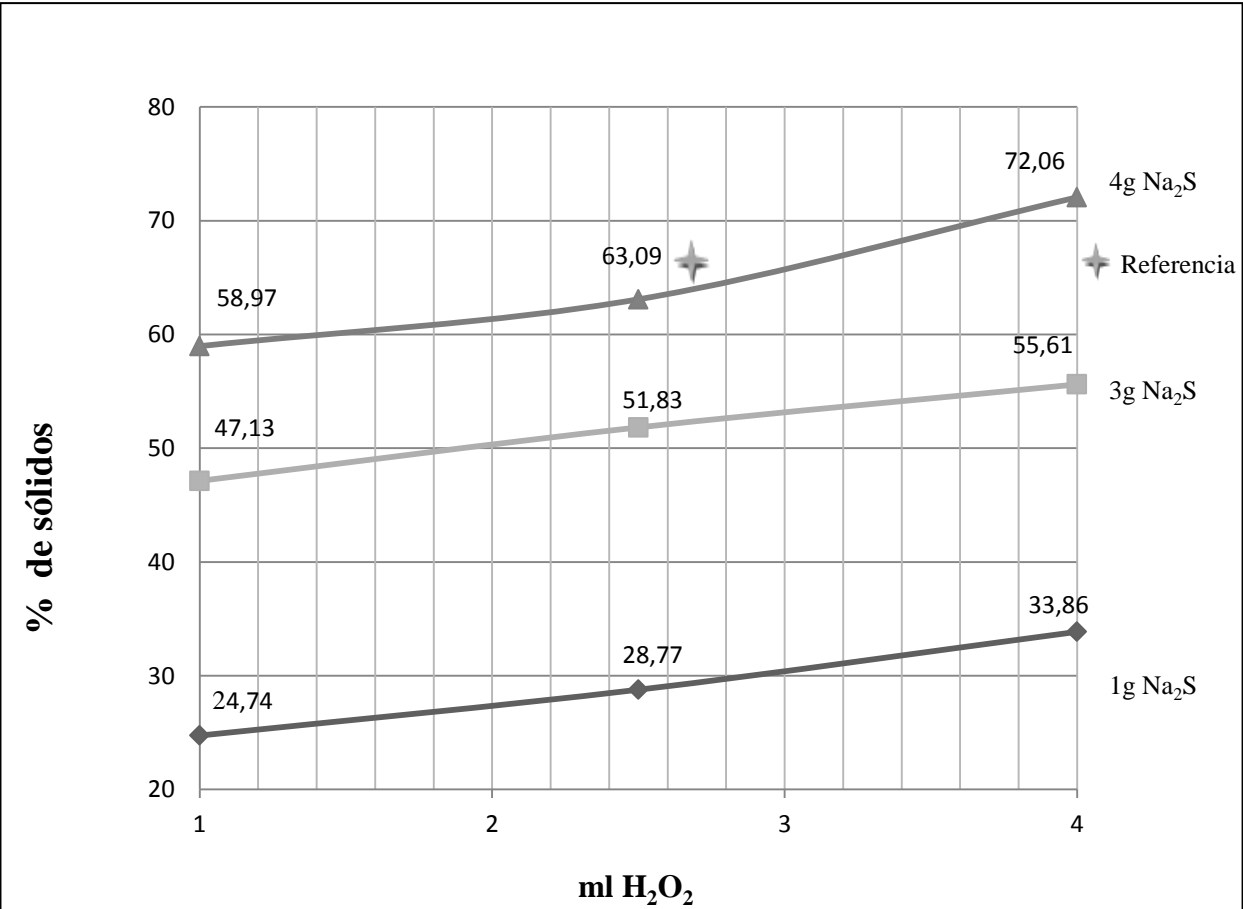


Figura 3.1. Variación del % de sólidos de solución de queratina con las diferentes cantidades de Na_2S y de H_2O_2 .

b) Promedios del índices de refracción de las soluciones de queratina al 2% obtenidas.

Tabla 4.6. Índices de refracción (n) de soluciones de queratina al 2% de queratina obtenida al variar la cantidad de Na₂S y H₂O₂.

<i>gNa₂S</i>	<i>1</i>	<i>1</i>	<i>1</i>	<i>3</i>	<i>3</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>4</i>	<i>4</i>
<i>mL H₂O₂</i>	<i>1</i>	<i>2,5</i>	<i>4</i>	<i>1</i>	<i>2,5</i>	<i>4</i>	<i>1</i>	<i>2,5</i>	<i>4</i>
<i>Índices de refracción (n)</i>	1,28	1,35	1,38	1,39	1,42	1,46	1,48	1,51	1,52

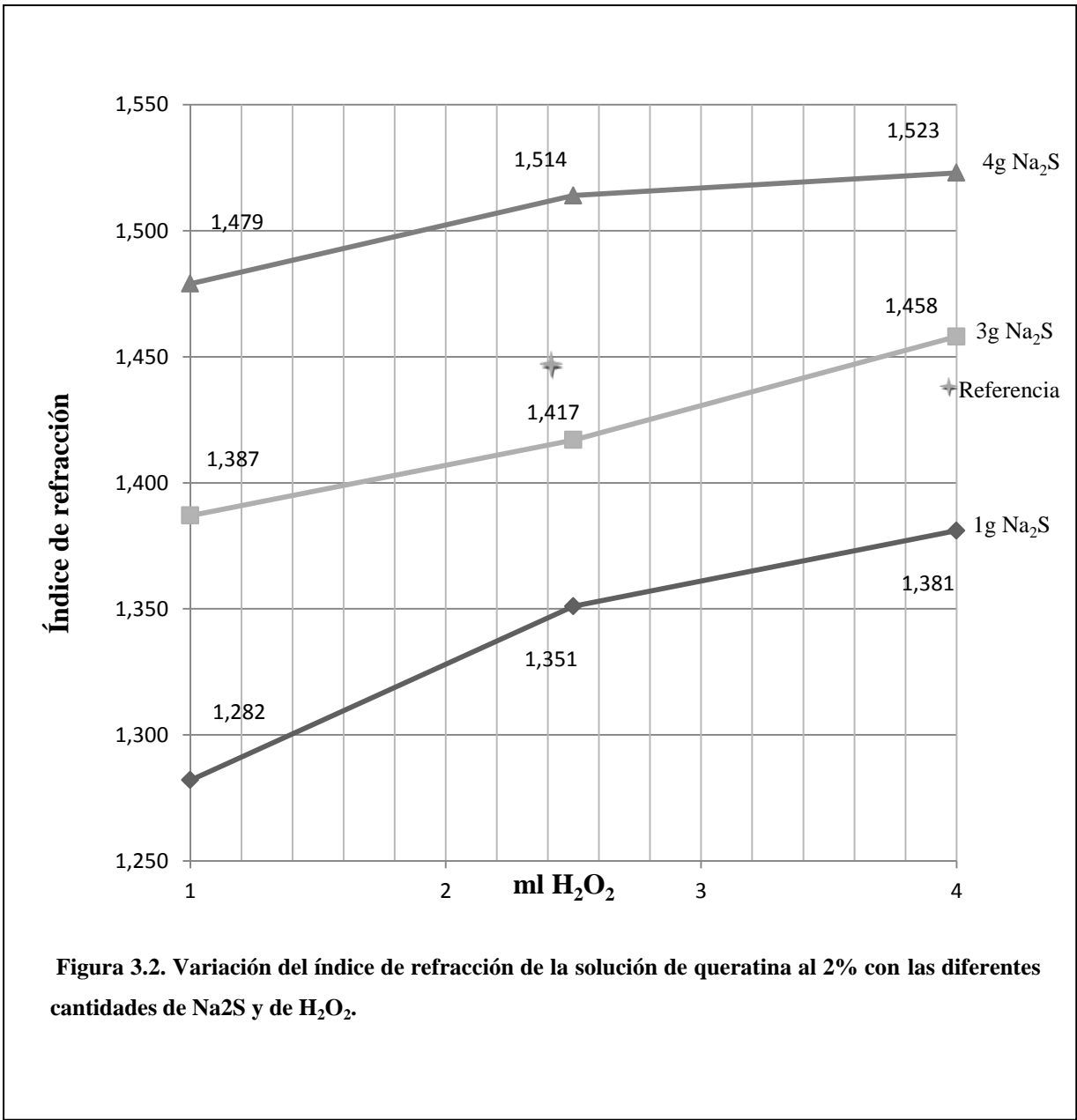
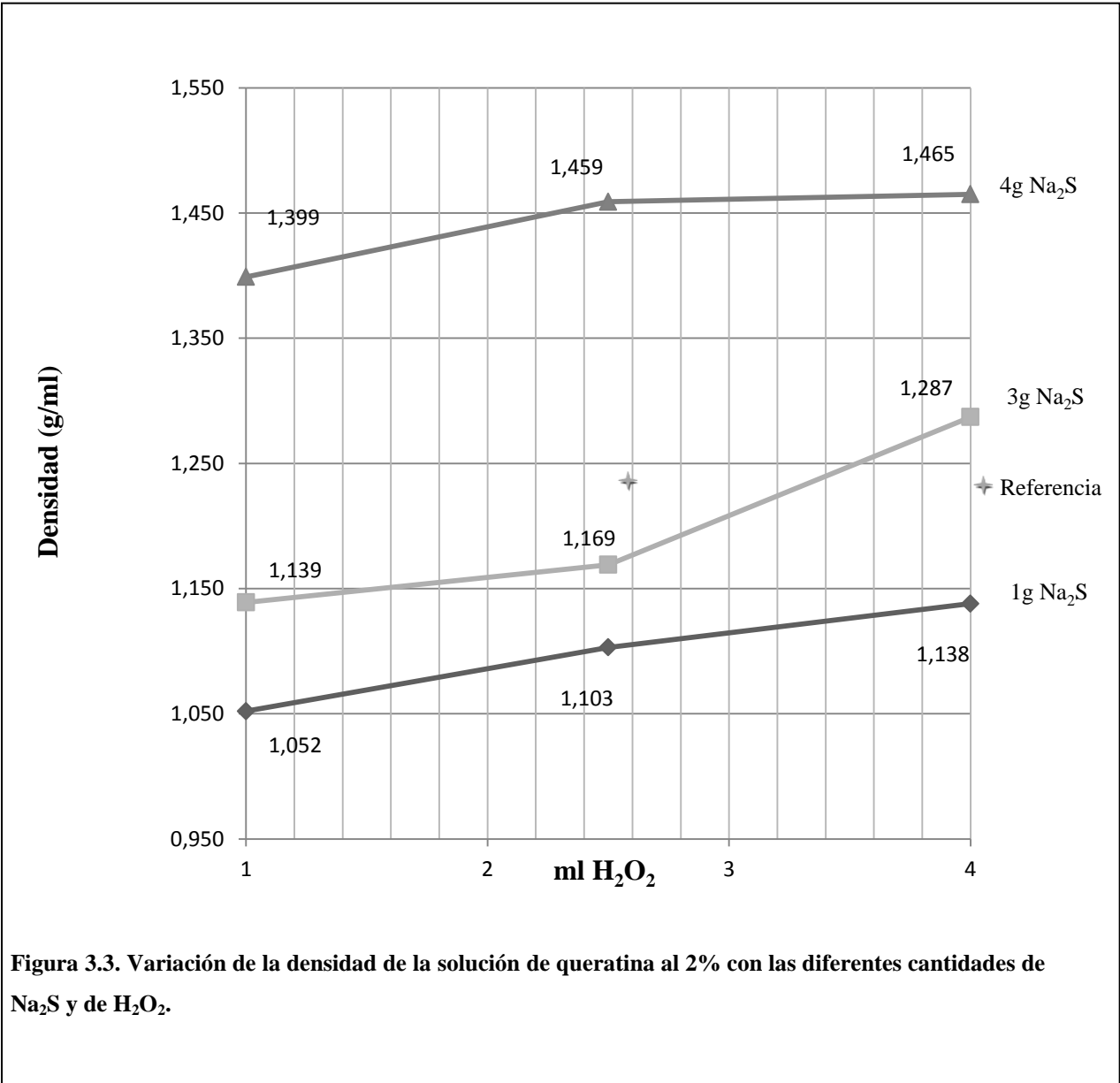


Figura 3.2. Variación del índice de refracción de la solución de queratina al 2% con las diferentes cantidades de Na₂S y de H₂O₂.

c) Promedios del densidad a 20°C de las soluciones de queratina al 2% obtenidas.

Tabla 4.7. Densidad (ρ) de soluciones de queratina al 2% de queratina obtenida al variar las cantidades de Na_2S y H_2O_2 .

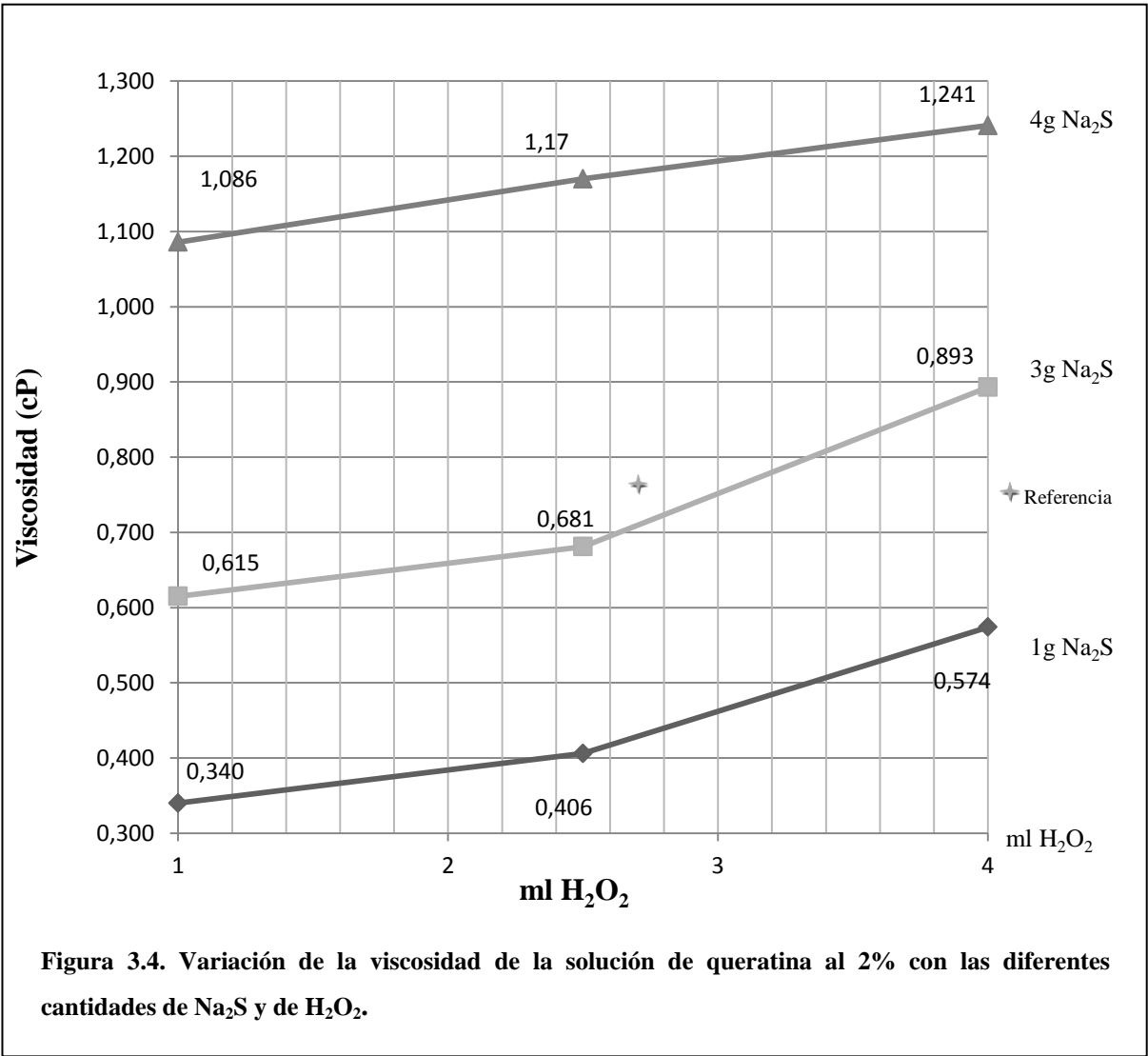
$g\text{Na}_2\text{S}$	1	1	1	3	3	3	4	4	4
$\text{mL H}_2\text{O}_2$	1	2,5	4	1	2,5	4	1	2,5	4
Densidad (ρ)	1,05	1,10	1,14	1,14	1,17	1,29	1,40	1,46	1,47



d) Promedio de la viscosidad de las soluciones de queratina al 2% obtenidas.

Tabla 4.8. Viscosidad (cP) a 20°C de las soluciones de queratina al 2% obtenidas al variar la cantidad de Na₂S y de H₂O₂.

<i>gNa₂S</i>	<i>1</i>	<i>1</i>	<i>1</i>	<i>3</i>	<i>3</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>4</i>	<i>4</i>
<i>mL H₂O₂</i>	<i>1</i>	<i>2,5</i>	<i>4</i>	<i>1</i>	<i>2,5</i>	<i>4</i>	<i>1</i>	<i>2,5</i>	<i>4</i>
<i>Viscosidad (cP)</i>	<i>0,34</i>	<i>0,41</i>	<i>0,57</i>	<i>0,62</i>	<i>0,68</i>	<i>0,89</i>	<i>1,09</i>	<i>1,17</i>	<i>1,24</i>



4.1.5 Resultados del análisis de varianza de los datos obtenidos en la variación de la cantidad Na_2S y de H_2O_2 .

a) Modelo Estadístico para el índice de refracción de las soluciones de queratina al 2%.

Tabla 4.9. Arreglo combinatorio axb para índice de refracción.

Sulfuro de Sodio	Peróxido de Hidrógeno				
	H2	H3	H4	Σ	\bar{X}
S1	3,8474	4,1611	3,4137	11,4222	3,8074
S2	4,0517	4,2522	4,5050	12,8089	4,2696
S3	4,5760	4,6230	4,6600	13,8590	4,6197
Σ	12,4751	13,0363	12,5787	38,0901	38,0568
\bar{X}	4,1584	4,3454	4,1929	12,6967	4,2322

- Factor de corrección.

$$FC = \frac{(Y \dots)^2}{abn} = \frac{38.0901^2}{3 \times 3 \times 3} = 53,7354$$

- Suma de cuadrados totales

$$S_{CT} = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^n (Y_{ijk}^2) - FC = (1.279^2 + 1.279^2 \dots + 1.515^2) - 53,7354 = 0,1814$$

- Suma de cuadrados de los tratamientos

$$S_{Ctr} = \frac{\sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b (Y_{ij.}^2)}{axb} - FC = \frac{3,8474^2 + 4,1611^2 \dots + 4,6600^2}{3} - 53,7354 = 0,4614$$

- Suma del error experimental

$$SCEE = SCT - SCtr$$

$$SCEE = 0,1813 - 0,4614 = 0,279$$

- Suma de cuadrados del factor A.

$$SCFA = \frac{\sum_{i=1}^a Y_{ij.}^2}{bn} - FC = \frac{11,42^2 + 12,81^2 + 13,8590^2}{3 \times 3} - 53,7354 = 0,2719$$

- Suma de cuadrados del factor B

$$SCFB = \frac{\sum_{j=1}^b Y_{.j}^2}{an} - FC = \frac{12,4751^2 + 13,063^2 + 12,5787^2}{3 \times 3} - 53,7354 = 0,0198$$

- Suma de cuadrados de la interacción AxB.

$$SCIAB = SCT - SCFA - SCFB$$

$$SCIAB = 0,1814 - 0,2719 - 0,0198 = 0,434$$

Tabla 4.10. Resumen del ADEVA para índice de refracción.

F.V.	S.C.	G.L.	C.M.	Fcal.	Fcal.	
					5%	1%
Total	0,181	26	$6,97 \cdot 10^{-3}$	0,445		
Tratamiento	0,461	8	0,058	3,761**	2,45	3,56
F.A.	0,272	2	0,136	8,770**	3,49	5,85
F.B.	0,019	2	0,099	6,387**	3,49	5,85
AxB	0,434	4	0,109	7,000**	2,87	4,43
Error Exp.	0,279	18	0,016			

Nota: F.V=Fuente de Variación
C.M=Cuadrados Medios.
Fcal=F calculada.

*=Significativo al 5%

g.l.=grados de libertad.
E.E= error experimental.
Ftab.= Ftabulada(al 5% o al 1%)

**= Significativo al 1%

- **Decisión**

Como se observa en la tabla 22. el valor de F calculada es mayor que F tabulada; por lo tanto, estadísticamente se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, la cual expresa que el factor A (g de Na₂S), el factor B (ml de H₂O₂) y su interacción A x B (las cantidades de las dos sustancias en el proceso de obtención de la queratina) si tienen efecto significativo en el valor del índice de refracción de la solución de queratina obtenida.

Por lo tanto, en el gráfico 4.1 se observa que: cuando se utiliza las cantidades de 3g de Na₂S y 2,5 ml de H₂O₂ en el proceso de producción, se obtiene una solución de queratina con el valor del índice de refracción (1.4161) cercano al que tiene la solución de la queratina cosmética (1.419).

b) Modelo Estadístico para la densidad de las soluciones de queratina al 2%.

Tabla 4.11. Arreglo combinatorio axb para Densidad.

Peróxido de Hidrógeno					
Sulfuro de Sodio	H2	H3	H4	Σ	Ā
S1	3,1617	3,4155	3,4137	9,991	3,3303
S2	3,3163	3,513	3,9607	10,790	3,5967
S3	4,2048	4,3882	4,4032	12,996	4,3321
Σ	10,6828	11,3167	11,7776	33,777	33,776
Ā	3,5609	3,7722	3,9259	11,259	3,753

- Factor de corrección.

$$FC = \frac{(Y \dots)^2}{abn} = \frac{33,771^2}{3 \times 3 \times 3} = 42,2552$$

- Suma de cuadrados totales

$$S_{CT} = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^n (Y_{ijk}^2) - FC = (1.0165^2 + 1.1478^2 \dots + 4.4032^2) - 42.2552 = 0,6820$$

- Suma de cuadrados de los tratamientos

$$S_{Ctr} = \frac{\sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b (Y_{ij.}^2)}{a \times b} - FC = \frac{3,1617^2 + 3,4155^2 \dots + 4,4032^2}{3} - 42,2552 = 0,6335$$

- Suma del error experimental.

$$SCEE = SCT - SCtr$$

$$SCEE = 0,6828 - 0,6335 = 0,04923$$

- Suma de cuadrados del factor A.

$$SCFA = \frac{\sum_{i=1}^a Y_{ij.}^2}{bn} - FC = \frac{9,99^2 + 10,79^2 + 12,99^2}{3 \times 3} - 42,2525 = 0,5365$$

- Suma de cuadrados del factor B

$$SCFB = \frac{\sum_{i=1}^b Y_{.j.}^2}{an} - FC = \frac{10,68^2 + 11,32^2 + 11,77^2}{3 \times 3} - 42,2552 = 0,0672$$

- Suma de cuadrados de la interacción AxB.

$$SCIAB = SCT - SCFA - SCFB$$

$$SCIAB = 0,6820 - 0,5365 - 0,0672 = 0,0783$$

Tabla 4.12. Resumen del ADEVA para Densidad.

F.V.	S.C.	G.L.	C.M.	Fcal.	F tab	
					5%	1%
Total	0,682	26	0,0262	95,90		
Tratamiento	0,634	8	0,0792	28,95**	2,45	3,56
F.A.	0,537	2	0,263	98,08**	3,49	5,85
F.B.	0,067	2	0,034	12,28**	3,49	5,85
AxB	0,076	4	0,0191	6,974**	2,87	4,43
Error Exp.	0,0492	18	2,74*10 ⁻³			

F.V=Fuente de Variación

C.M=Cuadrados Medios.

Fcal=F calculada.

*=Significativo al 5%

g.l.=grados de libertad.

E.E= error experimental.

Ftab.= Ftabulada(al 5% o al 1%)

**= Significativo al 1%

• *Decisión*

Como se observa en la tabla 24 el valor de F calculada es mayor que F tabulada; por lo tanto, estadísticamente se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, la cual expresa que el factor A (g de Na₂S), el factor B (ml de H₂O₂) y su interacción A x B (las cantidades de las dos sustancias en el proceso de obtención de la queratina) si tienen efecto significativo en el valor de la densidad de la solución de queratina obtenida.

Por lo tanto, en el gráfico 4.1 se observa que: cuando se utiliza las cantidades de 3g de Na₂S y 2.5 ml de H₂O₂ en proceso de producción, se obtiene una solución de queratina con el valor de la densidad (1,1687g/mL) cercano al que tiene la solución de la queratina cosmética (1,165).

c) Modelo Estadístico para la viscosidad de las soluciones de queratina al 2%.

Tabla 4.13. Arreglo combinatorio axb para Viscosidad.

Peróxido de hidrogeno					
Sulfuro de Sodio	H1	H2	H3	Σ	\dot{X}
S1	1,021	1,228	1,702	3,951	1,317
S2	1,828	2,026	2,684	6,538	2,179
S3	3,199	3,510	3,722	10,431	3,477
Σ	6,048	6,764	8,108	20,920	6,973
\dot{X}	2,016	2,254	2,702	6,973	2,324

- Factor de corrección.

$$FC = \frac{(Y \dots)^2}{abn} = \frac{20,920^2}{3 \times 3 \times 3} = 16,2091$$

- Suma de cuadrados totales.

$$S_{CT} = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^n (Y_{ijk}^2) - FC = (0,335^2 + 0,320^2 \dots + 1,262^2) - 16,2091 = 2,66$$

- Suma de cuadrados de los tratamientos

$$S_{Ctr} = \frac{\sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b (Y_{ij.}^2)}{axb} - FC = \frac{1,021^2 + 1,228^2 \dots + 3,722^2}{3} - 16,2091 = 2,63$$

- Suma del error experimental

$$SCEE = SCT - SCtr$$

$$SCEE = 2,66 - 2,63 = 0,03$$

- Suma de cuadrados del factor A.

$$SCFA = \frac{\sum_{i=1}^a Y_{ij.}^2}{bn} - FC = \frac{2,95^2 + 6,54^2 + 10,43^2}{3 \times 3} - 16,2091 = 2,37$$

- Suma de cuadrados del factor B

$$SCFB = \frac{\sum_{j=1}^b Y_{.j}^2}{an} - FC = \frac{6,05^2 + 6,75^2 + 8,11^2}{3 \times 3} - 16,2091 = 0,243$$

- Suma de cuadrados de la interacción AxB.

$$SCIAB = SCT - SCFA - SCFB$$

$$SCIAB = 2,66 - 2,37 - 0,24 = 0,05$$

A) Resultados de Análisis de Varianza.

Tabla 4.14. Resumen del ADEVA para Viscosidad

F.V.	S.C.	G.L.	C.M.	Fcal.	F tab	
					5%	1%
Total	2,66	26	0,102	52,65		
Tratamiento	2,63	8	0,33	168,81**	2,45	3,56
F.A.	2,67	2	1,18	608,6**	3,49	5,85
F.B.	0,24	2	0,12	62,6**	3,49	5,85
AxB	0,05	4	0,013	6,7**	2,87	4,43
Error Exp.	0,035	18	1,943*10 ⁻³			

F.V=Fuente de Variación

C.M=Cuadrados Medios.

Fcal=F calculada.

*=Significativo al 5%

g.l.=grados de libertad.

E.E= error experimental.

Ftab.= Ftabulada(al 5% o al 1%)

**= Significativo al 1%

- **Decisión**

Como se observa en la tabla 26 el valor de F calculada es mayor que F tabulada; por lo tanto, estadísticamente se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, la cual expresa que el factor A (g de Na₂S), el factor B (ml de H₂O₂) y su interacción A x B (las cantidades de las dos

sustancias en el proceso de obtención de la queratina) si tienen efecto significativo en el valor de la densidad de la solución de queratina obtenida.

Por lo tanto, en el gráfico 4.1 se observa que: cuando se utiliza las cantidades de 3g de Na_2S y 2,5 ml de H_2O_2 en proceso de producción, se obtiene una solución de queratina con el valor de la densidad (0,6752cP) cercano al que tiene la solución de la queratina cosmética (0,6788).

4.2 ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.2.1 Utilización de una parte de las plumas.

Las plumas de las aves de 2 meses de edad, de la Granja avícola Rancho Edén, contienen el 60,5% de raquis y el 39, 5% de barbillas, como en esta investigación se utilizó sólo las barbillas, se aprovechó cerca del 40% de las plumas para la producción de queratina.

Se eligió las barbillas de las plumas debido a que estas presentan un área mucho mayor que la de los raquis; de esta manera, la interface sólido-líquido entre las plumas y los reactivos líquidos, del proceso de producción de la queratina, es más grande y aumenta la rapidez de la reacción y el rendimiento de la queratina.

4.2.2 Determinación del método adecuado para la producción de queratina.

Con los resultados, que contiene la tabla 16 de la página 56, se puede establecer que la queratina obtenida por el método I o del Na_2S tiene la apariencia y el contenido de sólidos similares a los valores de la queratina de referencia (cosmética o comercial). Adicionalmente, la solución de queratina diluida al 2% da resultados del índice de refracción, densidad y viscosidad bastante cercanos a los correspondientes de la solución de queratina de referencia diluido al 2%. Por esta razón, el método I se eligió para ampliar la investigación, sobre el efecto de la variación de sus reactivos en las características de la queratina obtenida.

Por otro lado, el método I tiene algunas ventajas en relación a los otros dos métodos, estas son:

- Las reacciones ocurren en medio acuoso, en cambio en el método II se requiere de etanol absoluto y el método III de tetrahidrofurano, que son más costosos.
- El reductor Na_2S se manipula con mayor facilidad, que el sodio metálico en el método II y el NaBH_4 en el método III.
- El método I consta de dos etapas, una de reducción de los grupos disulfuro o tiol y otra de oxidación del tiol a ácidos sulfénico o sulfínico, cuyas sales sódicas evitarían que los grupos tiol den la reacción reversible de la reducción; los otros dos métodos sólo tienen una etapa, la de reducción y formación del grupo tiol.

4.2.3 Efecto de la variación de las cantidades de Na_2S y H_2O_2 en las características de la queratina obtenida.

Como se observa en la figura 24, el porcentaje de sólidos de la solución de queratina obtenida varía en relación proporcional y directa (casi lineal) con las cantidades de Na_2S (1g, 3g y 4g) y de H_2O_2 (1ml, 2.5ml, 4ml). El efecto en el aumento del porcentaje de sólidos es mayor con las cantidades de Na_2S (para 1ml de H_2O_2 : $47-25=22\%$ y $59-47=12\%$) que con las cantidades de H_2O_2 (para 1g de Na_2S : $29-25=4\%$ y $34-29=5\%$). Es decir, que la cantidad de reductor (Na_2S) tiene mayor efecto en el contenido de sólidos de la queratina obtenida, que la cantidad del oxidante (H_2O_2) usados en el método I.

Como los valores de índice de refracción, densidad y viscosidad de una solución varía con la concentración del soluto; para comparar estos valores relacionados con la calidad del soluto, se usaron soluciones de queratina (obtenidas y de referencia) de la misma concentración (al 2%).

Como cada queratina se obtiene aplicando un diferente grado de reducción en la primera etapa y un diferente grado de oxidación en la segunda etapa del proceso de obtención método I, cada queratina debe obtenerse con una diferente composición o estructura, que debe relacionarse con el número de puentes disulfuro (cistina) y grupos tiol (cisteína) que contiene esta proteína. También se debe considerar a los otros sólidos que acompañan a la queratina obtenida, que son productos de las diferentes reacciones complementarias del proceso de producción; tales como ciertas sales sódicas (NaHS , Na_2S_2 , Na_2SO_4 , etc.).

Por lo indicado, la leve variación (en la primera y segunda cifra decimal) de los valores del índice de refracción, densidad y viscosidad de las soluciones obtenidas tiene relación con la calidad de los solutos (queratina + otras sustancias), estos valores varían en relación directa con la cantidad del reductor y del oxidante aplicados en el proceso, como puede observarse en los gráficos de las figuras 25, 26 y 27.

4.2.4 Elección de las cantidades adecuadas de Na_2S y H_2O_2 para la obtención de queratina cosmética.

En base a los resultados graficados en las figuras 25, 26 y 27 se puede establecer que, cuando se utiliza 3g de Na_2S en la primera etapa y 2,5 ml de H_2O_2 en la segunda etapa del proceso, la queratina obtenida tiene los valores más cercanos del índice de refracción, densidad y viscosidad, a los valores correspondientes de la queratina de referencia. Es decir, que con estas cantidades de

reductor y de oxidante se obtiene la queratina de calidad “cosmética” y de esta manera se verificó la técnica propuesta en la literatura.

4.2.5 Confirmación estadística de la relación entre las variables usadas.

En esta investigación se relacionó a dos variables independientes del proceso de producción, que son la cantidad de Na_2S (en g) y la cantidad de H_2O_2 (en ml) con una de las siguientes variables dependientes: índice de refracción, densidad o viscosidad de la solución de queratina obtenida. Con los resultados del análisis de varianza de los valores experimentales se establece estadísticamente que las variables independientes indicadas tienen efecto significativo en la variable dependiente. Esto reafirma lo explicado en el análisis de los resultados realizados en 4.2.3.

4.2.6 Elección de la variable dependiente adecuada.

Con cada una de las tres variables dependientes (índice de refracción, densidad o viscosidad de la solución de queratina) se obtiene el mismo resultado, para la determinación de las cantidades adecuadas de Na_2S y H_2O_2 en la obtención de la queratina cosmética.

Por lo tanto, se puede elegir a cualquiera de ellas para la determinación anterior; solamente por la facilidad y rapidez en la determinación en el laboratorio se debe elegir al índice de refracción de la solución de queratina obtenida, como la variable dependiente adecuada. El segundo orden de preferencia tendría la densidad y al último estaría la viscosidad.

4.2.7 Transformación química de la queratina natural, insoluble en agua, a un derivado hidrosoluble.

Como la queratina natural está constituida por varias cadenas de proteína unidas por puentes disulfuro, formando una estructura reticulada (red tridimensional); cuando se rompen estos puentes disulfuros (mediante reducción para formar los grupos tiol) las cadenas de proteína se separan unas de otras (pierde la estructura reticulada). Si los grupos tiol se oxidan a ácidos sulfínico y similares y luego se neutralizan por el medio básico se forman grupos salinos (sal sódica de tiol y ácidos sulfínicos).

Estos nuevos grupos son hidrosolubles y las cadenas de proteína individuales serán solubles en agua; por lo tanto, mientras mayor sea el número de los grupos salinos que contiene la cadena de proteína mayor será su solubilidad en agua.

CAPÍTULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES.

- Las barbillas de las plumas constituye una materia prima adecuada para la obtención de queratina cosmética. En cambio, los raquis de las plumas (estos son más compactos y tienen menos área que las barbillas) deben requerir de tiempos más largos en el proceso de reducción.
- Con el método de Na₂S se obtiene las soluciones de queratina. Con características similares a las de la queratina cosmética (comercial), también en su procedimiento se usa agua y temperatura ambiente que bajan el costo de producción y no es peligroso. Estas son ventajas sobre los métodos, por lo tanto este método es el más recomendado para la obtención de queratina cosmética.
- El método de Na₂S es un proceso químico de oxidación reducción que transforma la queratina natural (insoluble en agua porque las cadenas de proteínas están unidas por puentes disulfuro) en un derivado hidrosoluble, que contiene las sales sódicas de los grupos tiol y ácido sulfínico o similares (obtenidos por reducción de los puentes disulfuro a tiol y su posterior oxidación a ácidos sulfínico u otros.)
- La queratina cosmética producida por el método del Na₂S está constituida, principalmente, por un derivado hidrosoluble de la queratina natural, que son moléculas de proteína individuales y ellas contienen los grupos salinos en la parte lateral de su estructura. Estos grupos estarían orientados con su parte iónica hacia el agua.
- El contenido de sólidos de la solución de queratina y los valores del índice de refracción, la densidad y de la viscosidad de la solución de queratina diluida al 2% varían en relación directa con la cantidad de Na₂S y de H₂O₂ que se utilizaron en el proceso de obtención.
- La variación de las cantidades de Na₂S tienen mayor efecto que las cantidades de H₂O₂ en la variación de las variables dependientes (índice de refracción, densidad o viscosidad).
- Las cantidades de Na₂S y de H₂O₂, utilizadas como variables independientes, estadísticamente tienen efecto significativo en las variables dependientes del proceso de obtención de la queratina.
- La queratina cosmética se obtiene utilizando 3g de Na₂S y 2,5ml de H₂O₂ en el proceso de obtención con las barbillas de las plumas. Es decir no corresponde a la solución que tiene el contenido de sólidos más alto, ni tampoco a la solución que tenga los valores más altos del índice de refracción, de la densidad o de la viscosidad.

- La queratina cosmética no está constituida por la solución acuosa del derivado hidrosoluble de la queratina natural, sino también por las sales alcalinas inorgánicas que se generaron en el proceso químico de oxidación y de reducción.
- El etóxido de sodio actúa como base para sacar los α H de los grupos carbonilos de los enlaces glicocídicos de la proteína y forma los grupos relacionados con el ácido acrílico y esto ocasiona el rompimiento de los puentes disulfuro. Por lo tanto, el derivado de la queratina no es idéntico al que se obtiene por el método del Na₂S y H₂O₂.
- Lo mismo se indicaría con respecto al método del NaBH₄, esta sustancia reduce directamente los puentes disulfuro de la queratina, pero los grupos tiol obtenidos, no son oxidados a grupos del ácido sulfénico y similares, como sucede en el método del sulfuro de sodio-H₂O₂. Luego, los productos obtenidos en los tres métodos aplicados en la investigación, no tendrían los mismos grupos hidrosolubles y también variará la cantidad de los mismos.

5.2 RECOMENDACIONES

- De los tres métodos aplicados para la obtención de la queratina cosmética, utilizar el método del sulfuro de sodio por las ventajas explicadas antes en relación a los otros dos métodos. Principalmente, por que con este método se obtiene la queratina cosmética con características muy similares a las del producto comercial.
- El procedimiento que debe seguirse con el método del sulfuro de sodio es el siguiente: en un frasco de polietileno de 500ml (convoca ancha y tapa de rosca) se adiciona 5g de barbillas de plumas (limpias y secas) y 100ml de una solución acuosa de 3g Na₂S.9H₂O. Tapar el frasco herméticamente y agitar en una plataforma móvil por 24h. Filtrar la suspensión con papel cualitativo y lavar el precipitado con 20ml de agua. El filtrado con el agua. El filtrado con el agua del lavado recoger en un frasco de vidrio 300ml (con tapa de rosca), adicionar 2,5ml de H₂O₂ de 30v, tapar el frasco, agitar este en la plataforma móvil por 50min y neutralizar el contenido con H₂SO₄ al 10% hasta pH 7. La mezcla se filtra en papel cuantitativo y el filtrado se afora a 200ml con agua destilada. Esta solución acuosa corresponde a la queratina cosmética.
- En el método del etóxido de sodio se debe utilizar un frasco de polietileno de 300ml (con boca ancha y tapa rosca), que esté completamente seco, al que se adiciona 5g de barbillas de pluma, 100ml de etanol y 2g de sodio (cortado en varios pedazos). El recipiente se tapa rápidamente y se agita en la plataforma móvil por 24h, para que el hidrógeno que se genera actúe como reductor. La suspensión se filtra en papel cualitativo, en el filtrado se neutraliza con H₂SO₄ al 10%, se deja sedimentar por 3h y la suspensión se filtra en papel cuantitativo; finalmente el filtrado se afora a 200ml con agua destilada para la caracterización de la queratina cosmética.

- Cuando se utiliza el NaBH_4 es recomendable la siguiente relación: 5g de plumas (con sus raquis y barbillas), 100ml de mezcla (60ml de agua+ 40ml THF) y 2g NaBH_4 , que se adicionan a un frasco de vidrio de 200ml (con boca ancha y tapa de rosca) en el orden indicado y luego se tapa.

El procedimiento se continúa como el método del etóxido de sodio.

- Para verificar la capacidad de reducción de hidrogeno en el rompimiento de los puentes disulfuro, realizar un ensayo donde se burbujea este gas durante las 24h de agitación, en la suspensión de 5g de barbillas de plumas en 100ml de agua, luego medir el ph de la mezcla y neutralizar; finalmente se filtra la suspensión y el filtrado se afora a 200ml para la caracterización de la queratina cosmética.
- También se debe experimentar, sobre la posibilidad de eliminar las sales que contiene la solución de queratina obtenida con el método de sulfuro de sodio, mediante enfriamiento a varias temperaturas menores del ambiente, para que precipite las sales y se elimine, por filtración.

BIBLIOGRAFÍA

- Alonso, C. (2007). *Estructura y Síntesis de Alcoholes*. México. Limusa. pp 135
- García, Raúl. *Investigadores de la UNAM estudian estructura de plumas de ave para elaborar productos plásticos*. Recuperado el 17 de abril del 2012 en <http://www.invdes.com.mx/suplemento-noticias/plumas-de-pollo>.
- Barbeito, Rodrigo. *Estudio e identificación de bacterias quimiorganotróficas capaces de degradar queratina de la pluma biotecnológicos*. Recuperado el 22 de septiembre del 2011 <http://cbt.fcyt.umss.edu.bo/trabajo/verarticulo>.
- Benítez, Ricardo. *Proteínas procesos y aplicaciones*. Recuperado el 22 de septiembre del 2011 de <http://www.scielo.org.ar/pdf/abcl/v42n2/v42n2a08.pdf>.
- Carloerbareagenti (2010). *Ficha de seguridad de tetrahidrofurano*. Recuperado el 16 de marzo de 2012, de http://www.carloerbareagenti.com/Repository/CH5017_E.pdf.
- Carlosama, C. (2010). *Asociación colectiva para el desarrollo rural de tierra de campos*. Recuperado el 16 de enero de 2013, de: <http://www.cdrtcampos.es/lanatural/compostaje.htm>.
- Claudio, B. (2009). *Industria y ciencia*. Recuperado el 10 de febrero de 2012, de: http://www.revistavirtualpro.com/files/ED_200912.pdf
- Chamizo, J. (1994). *Química la ciencia central*. Recuperado el 10 de Octubre de 2012, de: http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx/sites/ciencia/volumen2/ciencia3/htm/sec_4.htm
- Dvorkin, J. (2010). *Bases fisiológica de la práctica médica*. México: Panamericana pp 47-51
- Dean, J. (2011). *Prácticas de laboratorio de física -densidad de líquidos*. México pp 15-18
- Escobedos, H. (2007). *Manual de prácticas de laboratorio de química*. 4ª ed. Chihuahua, México. Universidad Autónoma de Chihuahua pp 19-22.
- Favela, (2012). *Sulfuro de Sodio*. Recuperado el 10 de Octubre de 2012, de: <http://fagalab.com/Hojas%20de%20Seguridad/SULFURO%20DE%20SODIO.pdf>
- Fessenden, R. (1983). *Química orgánica*. México: Iberoamerica pp 207-208

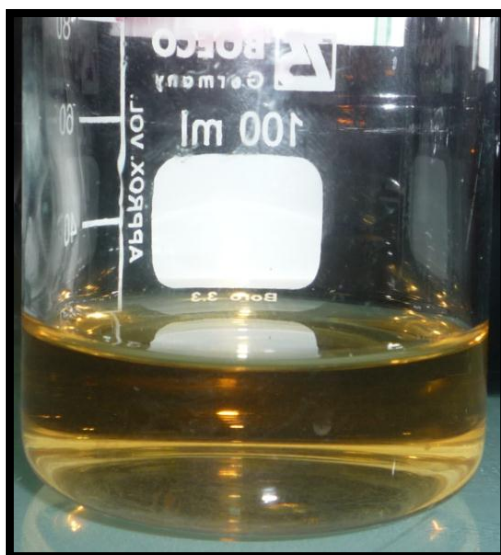
- Florido, J. (2010). *Procedimiento-obtencion-microfibras-queratina-partir-residuos-ganaderos*. Recuperado el 20 de Agosto del 2011, de: <http://patentados.com>
- Gacén, Joaquín. *Aspectos químicos de las proteínas ante agentes oxidantes*. Madrid,España: Libertad editorial pp 98-106.
- García, T. (2010). *Proteínas*. El Pequeño Larousse Ilustrado. México: Larousse. pp. 1824
- Genoma Sur. (2010). *Estructura Cuaternaria*. Recuperado el 16 de Septiembre de 2012, de <http://www.genomasur.com/lecturas/Guia02-2.htm>
- Gonzalez, M (2010). *Biología Molecular*. España: Euskal. pp 20-23
- Group GT3. (2008). *Agua Destilada*. Recuperado el 16 de Marzo de 2012, de http://www.t3quimica.com/MSDS/a3700_agua-destilada-prs_esp.pdf.
- Gutiérrez, H. (2004). *Análisis y Diseño de experimentos*. 1 ed. México: McGraw-Hill Interamericana pp 28-39.
- Hatschek, E. (1998). *Conceptos Reológicos*. Recuperado el 20 de enero de 2012, de <https://www.itescam.edu.mx/principal/sylabus/fpdb/.../r53208.DOC>.
- Kerstetter, J.(2005). *Aminoácidos*. Recuperado el 09 de febrero de 2012, de <http://www.ehu.es/biomoleculas/proteinas/prot2.htm#3>.
- Maquimsa.(2012). *Refractómetros*. Recuperado el 06 de febrero de 2012, de http://www.maquimsa.com/inf_refractometros.html.
- Mauri, A., Llobat, M. J., & Herráez, R. (2010). *Laboratorio de análisis instrumental*. España pp (78-81).
- McMurry, J. (2001). *Química Orgánica*. 5a ed. México. Thomson.pp 78, 89-92
- Merck. (2012). *Ficha de seguridad del acetato de Etilo*. Recuperado el 16 de Marzo de 2012, [http://www.quimica.merck.com/acetato de etilo..mx/IMG/pdf/2hsnaoh.pdf](http://www.quimica.merck.com/acetato-de-etilo..mx/IMG/pdf/2hsnaoh.pdf)
- Merck (2012). *Ficha de seguridad del hidróxido de sodio*. Recuperado el 16 de Marzo de 2012, [http://www. quimica.merck.com/hidróxido de sodio.mx/IMG/pdf/2hsnaoh.pdf](http://www.quimica.merck.com/hidróxido-de-sodio.mx/IMG/pdf/2hsnaoh.pdf).

- Merck. (2012). *Ficha de seguridad del sulfuro de sodio*. Recuperado el 16 de Marzo de 2012, <http://www.quimica.sulfuro de sodio.mx/IMG/pdf/2hsnaoh.pdf>
- Merck. (2012). *Ficha de seguridad del sodio metálico*: Recuperado el 16 de Marzo de 2012, <http://www.quimica.sodio Metálico.mx/IMG/pdf/2hsnaoh.pdf>.
- Ofi. (1996). *Oficinas española de patentes y marcas* : Composiciones estables de sulfuros, usos y un procedimiento para su preparación. Recuperado el 17 de Enero de 2012, de http://www.espatentes.com/pdf/2105642_t3.pdf
- Osejos, P (2010). *Plan de manejo Industrial para Empresas*. Recuperado el 22 de Septiembre de 2011, de <http://biodigital.edu7bitstream/15000/1864/1/CD-2437.pdf>.
- Publicaciones textiles. (2007). Recuperado el 20 de Septiembre de 2012, de http://www.aduanas-mexico.com.mx/cgi-bin/ctarnet/notas_ex/not_2830.html.
- Phitother, S.A. (2006). *Ficha técnica de queratina*. Colombia
- Proquimsa, S.A (2007). *Ficha técnica viscosidad de queratina* . Colombia
- Rodríguez, J. (2009). *Reducción química de plumas de aves para la obtención de queratina Hidrolizada*. Recuperado el 17 de Noviembre de 2011 de univalle.edu/.../145-journal-boliviano-de-ciencias-07. Universidad del valle. Bolívia.
- Rodriguez, S. (2009). *“Obtención de queratina de plumas de gallina”*. Prácticas de laboratorio de polímeros y plásticos, Quito. uce.
- Saltos, H. (1993). *Diseño experimental*. Ambato, Ecuador, Editorial Pío XII. pp 89-92
- Wilkins, J., Moore, M., y Rodriguez, D. (1990). *Cosmetología de Harry*. Madrid: Diaz Santos.

ANEXOS

SOLUCIÓN DE QUERATINA OBTENIDO POR:

- Método I ó del sulfuro de sodio.



- Método II o del etóxido de sodio.



- **Método III o del borohidruro de sodio.**



- **Referencia Comercial ó Cosmética**



